ZUR PHARMAKOKINETIK DER STROPHANTHUSGLYKOSIDE BEIM MENSCHEN

Inaugural – Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der

Mathematisch–Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Khaisaeng Rojsathaporn

aus Singhburi, Thailand

Düsseldorf 1982

ZUR PHARMAKOKINETIK DER STROPHANTHUSGLYKOSIDE

BEIM MENSCHEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Khaisaeng Rojsathaporn

aus Singhburi, Thailand

Düsseldorf 1982

Aus dem Institut für Pharmakologie der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. K. Greeff

Referent: Professor Dr. med. K. Greeff
Korreferent: Professor Dr. rer. nat. B. C. Lippold

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Unterstützung des
Deutschen Akademischen Austauschdienstes.

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
1. Einleitung	1
2. Ziel der Untersuchungen	4
3. Material und Methodik	5
3.1. Versuchspersonen und Versuchsanordnung	5
3.2. Verwendete Glykosidpräparate und Reinheitsprüfung	6
3.3. Verwendete Reagenzien	7
3.3.1. Zur radioimmunologischen Bestimmung	7
3.3.2. Zur Hochdruckflüssigkeitschromatographie	10
3.3.3. Zur Glucuronidase/Arylsulfatase-Abspaltung	10
3.4. Prinzip der Kombination des Radioimmunoassays (RIA) mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	11
3.5. Methodik der radioimmunologischen Bestimmung	12
3.6. Methodik der Trennung mittels HPLC	15
3.7. Methodik zur Spaltung konjugierter Metaboliten	20
3.8. Mathematisches Verfahren zur Berechnung kinetischer Daten	20
4. Ergebnisse	22
4.1. Renale Ausscheidungskinetik und biologische Verfügbarkeit von Cymarin	22
4.2. Renale Ausscheidungskinetik und biologische Verfügbarkeit von k-Strophanthosid	28
4.3. Renale Ausscheidungskinetik und biologische Verfügbarkeit von g-Strophanthin	33
4.4. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten nach Gabe von Cymarin	39
4.5. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten nach Gabe von k-Strophanthosid	44

4.6. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten nach Gabe von g-Strophanthin 48

5. Diskussion 50
5.1. Cymarin 50
5.2. k-Strophanthosid 51
5.3. g-Strophanthin 56
5.4. Biologische Verfügbarkeit bzw. enterale Resorption von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin 60

6. Zusammenfassung 62

7. Literaturverzeichnis 64

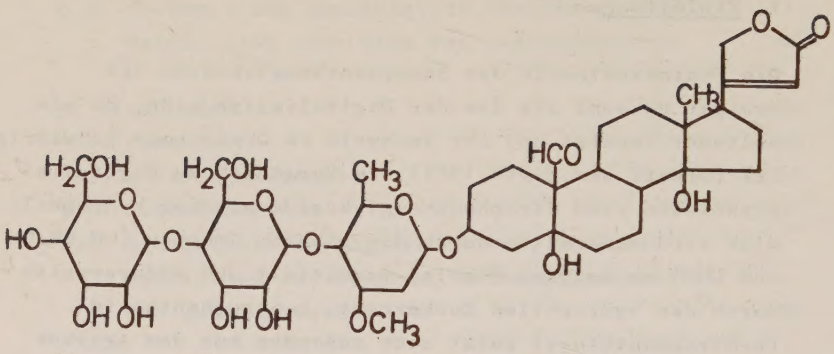
8. Danksagungen 70

9. Lebenslauf 71

1. Einleitung.

Die Pharmakokinetik der Strophanthusglykoside ist weniger bekannt als die der Digitalisglykoside, da sie seltener benutzt und ihr Nachweis im Organismus schwierig ist (Greeff und Wirth,1981). Im Vergleich zu Digitalisglykosiden sind Strophanthusglykoside stärker hydrophil; dies wird einerseits durch die polaren Gruppen (OH,CH_2OH und CHO) am Aglykon (Genin) vermittelt und andererseits durch den hydrophilen Zuckerrest. k-Strophanthosid (k-Strophanthin-γ) setzt sich zusammen aus dem Aglykon k-Strophanthidin und einem Zuckerrest, bestehend aus einem Molekül Cymarose und 2 Molekülen Glucose (Abb.1). Durch Abspaltung der beiden Glucosemoleküle entsteht aus k-Strophanthosid Cymarin (k-Strophanthin-α). g-Strophanthin (Ouabain) besitzt als Aglykon g-Strophanthidin (Ouabagenin) und als Zuckerrest ein Molekül Rhamnose (Abb.1). Ihre Pharmakokinetik steht in enger Beziehung zur ihren physiko-chemischen Eigenschaften. Die hohe Polarität der Strophanthine führt zu einer niedrigen Lipoidlöslichkeit, damit einer geringeren enteralen Resorption und einer schnelleren renalen Elimination.

Pharmakokinetische Untersuchungen beim Menschen nach Verabreichung von ^3H-k- und g-Strophanthin oder aufgrund radioimmunologischer Bestimmungen ergaben, daß k-Strophanthosid und g-Strophanthin bei oraler Gabe wenig resorbiert werden (Greeff et al.,1974; Greeff und Wirth,1981). In der ärztlichen Praxis erfolgt eine Strophanthinbehandlung deshalb in intravenöser Form. Oral verabreicht wird k-Strophanthosid wahrscheinlich erst nach Abspaltung der beiden Glucosemolekülen als Cymarin aus dem Darm resorbiert (Greeff,1958; Engler et al.,1958). Diese Abspaltung verläuft vermutlich schrittweise, über k-Strophanthin-β zu Cymarin.


Glucose
Glucose
Cymarose
k-Strophanthidin
Cymarin
k-Strophanthin-β
k-Strophanthosid

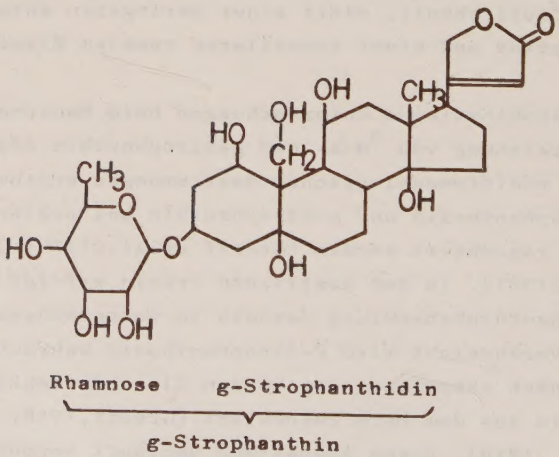

Rhamnose
g-Strophanthidin
g-Strophanthin

Abb.1

Cymarin wird bei oraler Gabe nach klinischen Untersuchungen besser resorbiert als k-Strophanthosid (Geissberger,1961). Der Metabolismus des Cymarins beim Menschen ist bisher noch unklar. Im Tierversuch oder in vitro liefert Cymarin bei Inkubation mit Rattenleberschnitten oder -homogenaten verschiedene Metaboliten: 1) das durch Abspaltung der Cymarose entstehende k-Strophanthidin (Lauterbach und Repke,1960; Lauterbach,1964; Moerman,1965), 2) das durch Demethylierung der Cymarose entstehende Helveticosid (Lauterbach und Repke,1960) und 3) das durch Reduktion der Aldehydgruppe an C-19 des Cymarins, Helveticosids bzw. des k-Strophanthidins entstehende Cymarol, Helveticosol bzw. k-Strophanthidol (Lauterbach,1964; Moerman,1965). Die Bedeutung dieser Reaktionen besteht in einer Erhöhung der Polarität des Moleküls und damit einer Beschleunigung der Elimination.

g-Strophanthin wird nach den bisher vorliegenden Untersuchungen nicht oder kaum metabolisiert (Lahrtz et al., 1969; Marks et al.,1964). k-Strophanthin wird also stärker metabolisiert als g-Strophanthin. Im Blut werden g- und k-Strophanthin nur wenig an Albumine gebunden; dies ist die Ursache eines schnellen Eintritts und einer kurzen Dauer der Wirkung. Für k-Strophanthin fanden Brass und Philipps (1970) mit der Filtrationsmethode in vivo eine Eiweißbindung von unter 10 %. Mit Hilfe der Gelfiltration ermittelte Kuschinsky (1969) für ^{3}H-g-Strophanthin eine Eiweißbindung von unter 5 %. g- und k-Strophanthin werden überwiegend über die Niere und daneben über die Leber mit der Galle in den Darm ausgeschieden (S.5. Diskussion).

2. Ziel der Untersuchungen.

Folgende Untersuchungen über die Pharmakokinetik der Strophanthusglykoside sollten durchgeführt werden:

1. Ein Vergleich der renalen Eliminationskinetik von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin nach einmaliger intravenöser oder oraler Verabreichung an gesunden Versuchspersonen.
2. Eine Bestimmung der Resorption bzw. biologischen Verfügbarkeit dieser Glykoside nach oraler Gabe.
3. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten im Harn.

Zu diesem Zweck wurde zunächst in allen Harnproben ein Radioimmunoassay durchgeführt, danach eine hochdruck-flüssigkeitschromatographische qualitative Trennung der Metaboliten und in Kombination ein quantitativer radio-immunologischer Nachweis.

3. Material und Methodik.

3.1. Versuchspersonen und Versuchsanordnung.

Die Versuche wurden an Gruppen von 5-6 gesunden, männlichen Versuchspersonen durchgeführt; Alter und Gewicht sind in der folgenden Aufstellung zusammengefaßt:

	Alter(Jahre)	Gewicht(kg)
Cymarin i.v.	23(21-26)	79(68-103)
Cymarin p.o.	24(21-30)	74(67-80)
k-Strophanthosid i.v.	23(20-29)	74(61-95)
k-Strophanthosid p.o.	25(23-27)	73(68-80)
g-Strophanthin i.v.	24(21-27)	80(74-96)
g-Strophanthin p.o.	25(23-27)	71(58-81)

Nach Aufklärung über das Versuchsprogramm wurden Anamnese, EKG, Blutdruck und Pulsrate kontrolliert. Kontrollharn wurde unmittelbar vor der Glykosidgabe gesammelt.

Bei intravenöser Gabe erhielten die Versuchspersonen innerhalb von 2 min je
1,67 ml Cymarin (0,3 mg/ml),
2,0 ml k-Strophanthosid (0,25 mg/ml) oder
2,0 ml g-Strophanthin (0,25 mg/ml).
Das Volumen wurde mit 0,9 %iger Natriumchloridlösung auf 5 ml aufgefüllt.

Bei oraler Gabe erhielten die Versuchspersonen je
6 Dragees Cymarin (0,5 mg/Dragee),
1 Kapsel k-Strophanthosid (4,77 mg/Kapsel) oder
4 Dragees g-Strophanthin (2,0 mg/Dragee)
mit 100 ml Wasser.

Während der ersten 24 Std. wurde der Harn von 0-6, 6-12 und 12-24 Std. separat, danach 6 Tage über je 24 Std. gesammelt. Nach der Volumenmessung wurden Portionen des Sammelurins abgetrennt und bei -20°C gelagert. Die Versuchspersonen wurden frühestens nach einer Pause von 30 Tagen für einen weiteren Versuch eingesetzt.

3.2. Verwendete Glykosidpräparate und Reinheitsprüfung.

3.2.1 Verwendete Glykosidpräparate.

1. Cymarin Injektionslösung (Gödecke) Ch. 810125
   0,3 mg Cymarin/ml
2. Alvonal MR® (Gödecke) Ch. B 0011090
   0,5 mg Cymarin/Dragee
3. Strophosid® (Sandoz)
   0,25 mg k-Strophanthosid/ml
4. Magensaft-resistente Kapseln mit einem Gehalt von 4,77 mg k-Strophanthosid (Boehringer-Mannheim) Ch. 407129 pro Kapsel (hergestellt in der Apotheke der Universitätkliniken Düsseldorf)
5. g-Strophanthin Injektionslösung (Drobena) Ch. 76312
   0,25 mg g-Strophanthin/ml
6. Purostrophan® (Kali-Chemie/Pharma) Ch. 814680
   2,0 mg g-Strophanthin/Dragee

3.2.2. Reinheitsprüfung.

Die Reinheit der Präparate wurde mittels HPLC geprüft. Strophosid®, Cymarin Injektionslösung und g-Strophanthin Injektionslösung wurden in 100 µl direkt in die Trennsäule injiziert.

5 Dragees Alvonal MR® bzw. 4 Dragees Purostrophan® wurden pulverisiert, mit 1,5 ml Äthanol extrahiert und der Extrakt wurde zentrifugiert. 30 bzw. 10 µl des Überstandes wurden in die Trennsäule injiziert und mit Aqua dest./Acetonitril als Fließmittel aufgetrennt. Ergebnisse: Für alle untersuchten Präparate ließ sich nur ein einziger Peak nachweisen. Im Mischchromatogramm mit authentischen Verbindungen trat keine Entmischung ein.

3.3. Verwendete Reagenzien.

3.3.1. Reagenzien zur radioimmunologischen Bestimmung.

3.3.1.1. Pufferlösung (Inkubationsmedium).

Natriumchlorid (Merck)	877 mg
Dikaliumhydrogenphosphat (Merck)	174 mg
Aqua dest. ad	100 ml

Der pH Wert wurde durch Zusatz von verdünnter Kalilauge bzw. Phosphorsäure unter pH-Meterkontrolle auf pH 7,4 eingestellt.

3.3.1.2. Albumin-Pufferlösung.

2 mg/ml Humanalbumin (Behringwerke AG) in Pufferlösung.

3.3.1.3. Tritiierte Antigene.

^{3}H-k-Strophanthosid; spez. Aktivität 7,3 Ci/mM (NEN)
^{3}H-g-Strophanthin; spez. Aktivität 11,5 Ci/mM (NEN)

3.3.1.4. Szintillationslösung.

Quickszint® 294 (Zinsser)

3.3.1.5. Antiseren.

Für unsere Versuche verwendeten wir Antiseren, die nach der von Verspohl (1973) angegebenen Weise von Kaninchen gewonnen wurden. Zur Prüfung der Spezifität wurde die Kreuzreaktivität gegenüber Cymarin, k-Strophanthosid, g-Strophanthin, Digitoxin, Digoxin sowie Testosteron, Östradiol und Cortison geprüft.
Tab.1 zeigt, wieviel k-Strophanthosidäquivalente durch den Zusatz dieser Substanzen vorgetäuscht wurden. Alle eingesetzten Glykoside besitzen eine mehr oder weniger starke Affinität zu dem Antikörper, während sich mit Testosteron, Östradiol und Cortison erst bei 100-1000 fachem Überschuß eine geringe Kreuzreaktion fand.

Substanz	Radioimmunologisch bestimmte Glykosidmenge in ng k-Strophanthosid nach Zusatz der betreffenden Substanzen in ng			
	3	30	300	3000
k-Strophanthosid	3,0(100)	-	-	-
Cymarin	5,4(180)	-	-	-
g-Strophanthin	2,6(85)	16,5(55)	118,7(40)	-
Digitoxin	3,0(100)	35,3(118)	413,3(138)	-
Digoxin	0,8(26)	3,1(10)	12,4(4)	-
Testosteron	0(0)	0,1(0)	0,2(0)	2,0(0)
Östradiol	0(0)	0(0)	0(0)	1,5(0)
Cortison	0(0)	0,1(0)	0,2(0)	1,7(0)

Tab.1 Spezifität der radioimmunologischen k-Strophanthinbestimmung. Die Werte in Klammern bedeuten die prozentuale Menge des als k-Strophanthosidäquivalent bestimmten Wertes.

In Tab.2 sind entsprechende Untersuchungen mit g-Strophanthin dargestellt. Die g-Strophanthinbestimmung wurde durch k-Strophanthosid, Cymarin, Digitoxin und Digoxin leicht gestört. Steroidhormone zeigen auch bei 1000 fachem Überschuß keine nennenswerte Kreuzreaktion.

Substanz	Radioimmunologisch bestimmte Glykosidmenge in ng g-Strophanthin nach Zusatz der betreffenden Substanzen in ng			
	3	30	300	3000
g-Strophanthin	3,0(100)	-	-	-
k-Strophanthosid	0,8(27)	3,3(11)	20,7(7)	-
Cymarin	1,3(43)	7,8(26)	-	-
Digitoxin	0,6(20)	2,8(9)	17,3(6)	-
Digoxin	0,2(7)	1,3(4)	4,0(1)	-
Testosteron	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Östradiol	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Cortison	0(0)	0(0)	0(0)	0,1(0)

Tab.2 Spezifität der radioimmunologischen g-Strophanthinbestimmung. Die Werte in Klammern bedeuten die prozentuale Menge des als g-Strophanthinäquivalent bestimmten Wertes.

3.3.1.6. Standard-Strophanthinlösungen.

2, 5, 10, 20, 30, 60 ng/ml Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin in glykosidfreiem Kontrollharn zur Glykosidbestimmung im Nativharn.
1, 2, 5, 10, 15 ng/ml k-Strophanthosid, k-Strophanthin-β, Cymarin, Cymarol, k-Strophanthidin, k-Strophanthidol und g-Strophanthin in Aqua dest. zur Glykosidbestimmung in den durch HPLC erhaltenen Fraktionen.

3.3.1.7. Dextran-Aktivkohle-Suspension.

0,5 g Dextran 500 (Merck) auf 100 ml Pufferlösung
5,0 g Aktivkohle (Serva) auf 100 ml Pufferlösung
(vor Gebrauch zu gleichen Teilen zusammengeben)

3.3.2. Reagenzien zur HPLC.

1. Acetonitril (E.Merck)
2. Aqua dest.
3. Standardlösungen von 0,1 mg/ml Aqua dest.:
   Cymarin (Boehringer-Mannheim)
   k-Strophanthosid "
   k-Strophanthin-β "
   k-Strophanthidin "
   k-Strophanthidol "
   Cymarol "
   g-Strophanthin (Merck)

3.3.3. Reagenzien zur Glucuronidase/Arylsulfatase-Abspaltung.

1. β-Glucuronidase/Arylsulfatase aus Helix pomatis (Boehringer-Mannheim)
2. Phenolphthaleindisulfat, Dikaliumsalz (Aldrich)
3. Phenolphthaleinglucuronid, Na-Salz (Serva)
4. verdünnter Ammoniak
5. verdünnte Essigsäure

3.4. Prinzip der Kombination des Radioimmunoassays (RIA) mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).

Da die im RIA verwendeten Antikörper eine Affinität gegenüber allen Glykosiden mit gleichem Aglykon besitzen, ist eine radioimmunologische Bestimmung von Metaboliten erst nach Abtrennung mittels HPLC möglich.

Zur Durchführung radioimmunologischer Glykosidbestimmungen wird eine bekannte Menge markierten Glykosids mit soviel Antiserum inkubiert, daß nur etwa 50 % gebunden werden. Nach Einstellung eines Gleichgewichtes wird das nicht gebundene Glykosid durch Zugabe von Dextran-Aktivkohle abgetrennt. Versetzt man nun auf gleiche Weise angesetzte Proben mit steigenden Mengen unmarkierten Antigens (Glykosids), so reagieren unmarkiertes und markiertes Glykosid kompetitiv mit den spezifischen Bindungsstellen am Antikörper. Je mehr unmarkiertes Antigen im Ansatz enthalten ist, desto geringer wird die Radioaktivität des Antigen-Antikörperkomplexes im Überstand. Auf diese Weise erhält man durch Zugabe steigender Mengen unmarkierten Glykosids eine Eichkurve, aus der sich die Glykosidkonzentration der unbekannten Probe ablesen läßt.

Die Abtrennung von Metaboliten durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln ist wegen der Polarität der Strophanthine nicht möglich. Einfaches Trennverfahren ist die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (Erni und Frei, 1977; Karch et al., 1976; Nachtmann et al., 1976), eine Methode, die auch eine schnelle Auftrennung vom Nativharn erlaubt. Prinzip der HPLC ist eine Weiterentwicklung der Flüssigkeitschromatographie an Trennsäulen. Das Fließmittel (mobile phase) durchströmt die

Trennsäule unter hohem Druck (bis 400 bar). Dadurch kann die Korngröße des Trägermaterials der Säule verringert werden, so daß auch mit klein dimensionierten Säulen eine hohe Trennschärfe bei kurzen Trennzeiten erzielt werden kann. Standardfließmittel sind Gemische aus Aqua dest. und Acetonitril, deren prozentuale Zusammensetzung im Sinne einer Gradientenchromatographie kontinuierlich verändert werden kann. Der Nachweis der verschiedenen Komponenten eines zu trennenden Gemisches erfolgt durch die Bestimmung ihrer UV-Absorption.

3.5. Methodik der radioimmunologischen Bestimmung.

Zur radioimmunologischen Bestimmung wurden 100 µl Nativharn eingesetzt. War die Glykosidkonzentration in der Probe zu hoch, so wurde sie in einer zweiten Bestimmung mit glykosidfreiem Kontrollharn verdünnt. Zur chromatographischen Trennung wurden je 200 µl des am ersten, zweiten und dritten Tages ausgeschiedenen Harns auf die Säule gegeben und nach dem beschriebenen Verfahren in 5-6 Fraktionen aufgetrennt. In 200 µl jeder Fraktion wurde eine radioimmunologische Bestimmung durchgeführt. Eine Bestimmung über den 3. Tag hinaus war wegen der zu geringen Glykosidkonzentration nicht möglich. Waren in der ersten Fraktion des Chromatogramms immunologisch polare Metaboliten nachweisbar, so wurde der Rest zur Abspaltung konjugierter Verbindungen lyophilisiert. Die dabei gewonnenen Spaltprodukte wurden durch HPLC aufgetrennt und radioimmunologisch bestimmt.

Die radioimmunologische Glykosidbestimmung im Harn oder in den durch Abtrennung mittels HPLC gewonnenen Fraktionen erfolgte jeweils in 4 Ansätzen:

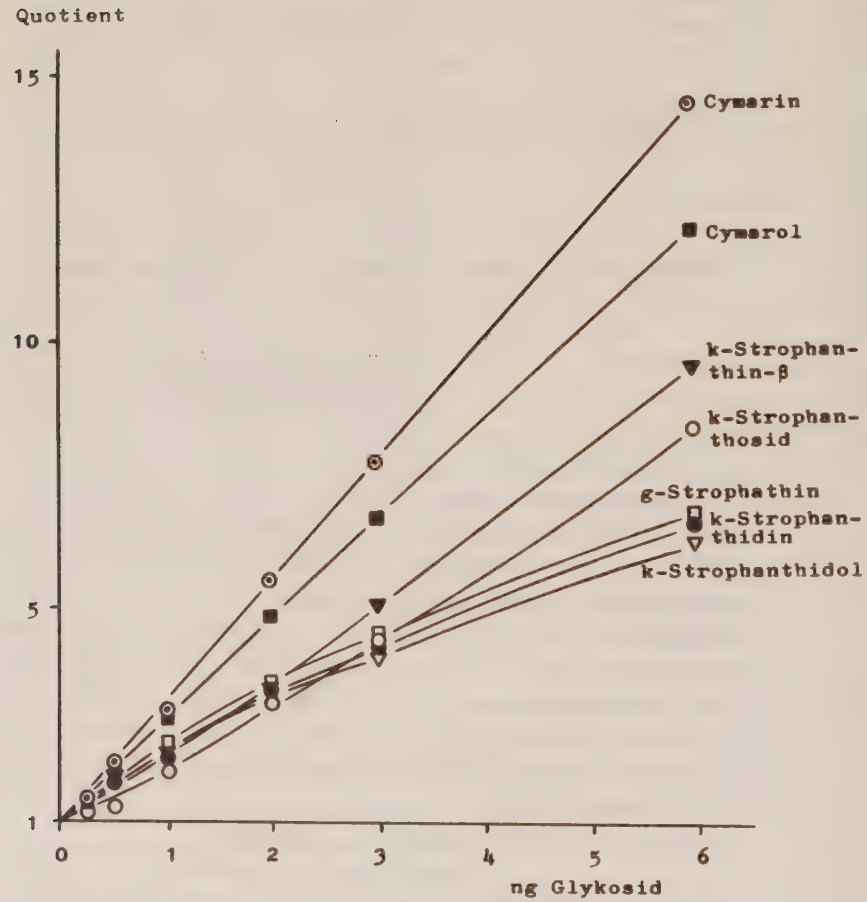
Ansatz	Albumin-Pufferlösg. mit 3ng ^{3}H-k-Strophanthosid oder g-Strophanthin	Harn	HPLC Fraktion	Anti-serum	Aqua dest.
1.Bezug-wert	1 ml	100 µl glykosidfreier Kontroll-harn	200 µl Aqua dest.	100µl	-
2.Standard	1 ml	100 µl Standard-glykosid-lösg. in Kontroll-harn	200 µl Stan-dard-Glyko-sidlö-sung	100µl	-
3.Versuch	1 ml	100 µl Versuchs-harn	200 µl Frak-tion	100µl	-
4.Leerwert	1 ml	100 µl glykosidfreier Kontroll-harn	200 µl Aqua dest	-	100µl

In jedem Versuch wurden Eichkurven aus 5-6 Standardwerten (0,2-6 ng unmarkiertes Glykosid) erstellt. Alle Ansätze wurden über Nacht bei Zimmertemperatur inkubiert. Am nächsten Tag wurden die Proben mit 0,5 ml Dextran-Aktivkohle-Suspension versetzt. Die Mischung wurde 10 min geschüttelt und 5 min bei 4000 U/min zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wurde in 8 ml Szintillationslösung pipettiert und geschüttelt. Die Radioaktivität wurde 10 min in einem Beckman LS 9000 Flüssigkeitszintillation-Zähler gemessen.

Der Quotient, $Q = \frac{\text{Bezugwert - Leerwert}}{\text{Standardwert - Leerwert}}$

wurde auf der Ordinate gegen die eingesetzte Menge unmarkierten Glykosids auf der Abszisse aufgetragen (Abb.2).

Abb.2 Eichkurven zur radioimmunologischen Bestimmung von Cymarin, Cymarol, k-Strophanthin-β, k-Strophanthosid, k-Strophanthidin, k-Strophanthidol und g-Strophanthin.



3.6. Methodik der Trennung mittels HPLC.

Für die Trennung, Identifikation und quantitative Bestimmung der Metaboliten waren 5 Arbeitsgänge notwendig:

1. eine Trennung der Bestandteile des Nativharns mittels HPLC
2. eine radioimmunologische Bestimmung der Glykoside bzw. ihrer Metaboliten in den einzelnen Fraktionen des HPLCs
3. eine Spaltung der konjugierten Metaboliten mittels Glucuronidase/Arylsulfatase
4. eine erneute Trennung der gespaltenen Metaboliten mittels HPLC
5. eine radioimmunologische Bestimmung der Einzelfraktion der 2. Trennung im 4. Arbeitsgang.

Für die hochdruckflüssigkeitschromatographische Trennung wurde ein Gerät der Firma Hewlett-Packard Typ 1084 B mit LC Terminal 79850 B und automatischem Fraktionensammler verwendet.

Trennbedingungen:

Säule:	RP 18 10 µm (Hewlett-Packard)
Mobile Phase:	Aqua dest.(A) / Acetonitril (B)
Fließgeschwindigkeit:	4 ml/min
Fließmittel-Gradient zur Trennung von Glykosiden des k-Strophanthidins:	Start mit 25 % B und Anstieg auf 30 % B innerhalb von 5 min.
Fließmittel-Gradient zur Trennung von g-Strophanthin:	Start mit 10 % B und isokratischer Lauf über 2 min, dann Anstieg auf 30 % B in 8 min.
Lösungsmitteltemperatur:	A 80°C, B 60°C
Temperatur des Säulenofens:	40°C
UV Detektor:	Messung bei 220 nm

Zur Ermittlung der Retentionszeiten (RT) wurden 100 µl einer Standardlösung von 0,1 mg/ml (a) k-Strophanthosid, (b) k-Strophanthin-β, (c) k-Strophanthidin, (d) k-Strophanthidol, (e) Cymarin, (f) Cymarol und (g) g-Strophanthin in Aqua dest., sowie eines Gemisches aus gleichen Volumina (a) - (f) (= 1,67 µg von jedem Glykosid/probe) bzw. 100 µl eines Gemisches aus gleichen Volumina (c), (d), (e) und (f) (= 2,5 µg eines jeden Glykosids/Probe) chromatographiert. Die Trennung wurde dreimal wiederholt und die erhaltenen Retentionszeiten wurden gemittelt. An Hand dieser Leitchromatogramme wurde festgelegt, nach welchem Schema die Chromatogramme in einzelne Fraktionen aufgetrennt werden mußten (Abb.3,4 und 5).

Zum Nachweis der möglichen Metaboliten des Cymarins wurde das Chromatogramm in 5 Fraktionen aufgetrennt. Es enthielt die

1.Fraktion: Unbekannte Verbindungen
2.Fraktion: k-Strophanthidol (RT:1,60 min)
3.Fraktion: k-Strophanthidin (RT:2,03 min)
4.Fraktion: Cymarol (RT:3,11 min)
5.Fraktion: Cymarin (RT:3,91 min).

Zum Nachweis der möglichen Metaboliten des k-Strophanthosids wurde das Chromatogramm in 6 Fraktionen aufgetrennt. Es enthielt die

1.Fraktion: Unbekannte Verbindungen
2.Fraktion: k-Strophanthosid (RT:1,16 min)
3.Fraktion: k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol (RT:1,53 min,keine Trennung im verwendeten System)
4.Fraktion: k-Strophanthidin (RT:1,93 min)
5.Fraktion: Cymarol (RT:3,17 min)
6.Fraktion: Cymarin (RT:4,10 min).

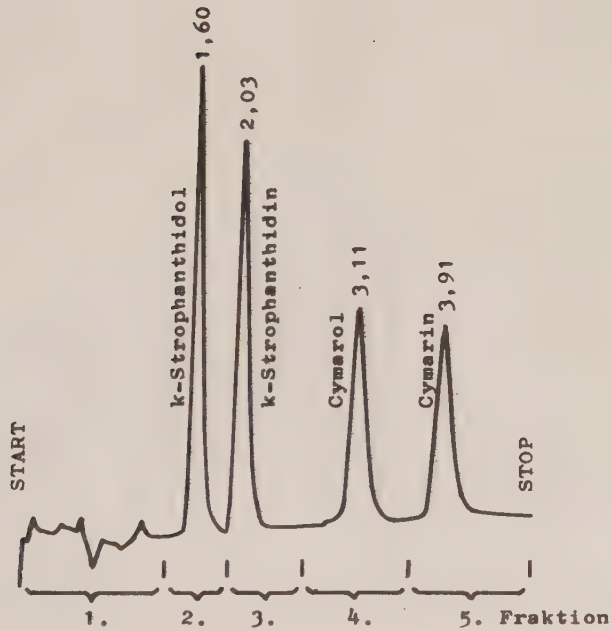


Abb.3 HPLC von Standard-k-Strophanthidol, k-Strophanthidin, Cymarol und Cymarin für die Trennung von Cymarin und dessen mutmaßlichen Metaboliten.

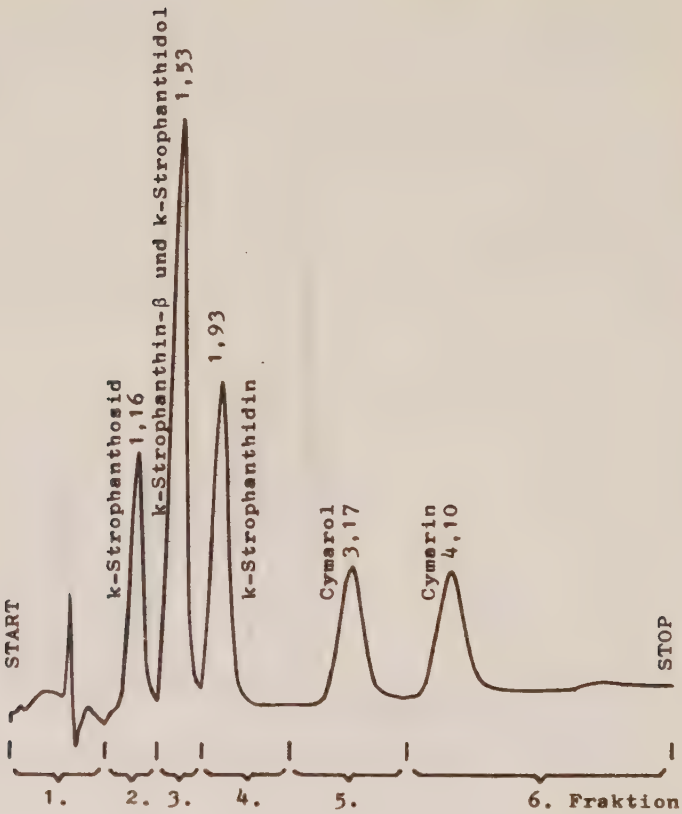


Abb.4 HPLC von Standard-k-Strophanthosid, k-Strophanthin-β, k-Strophanthidol, k-Strophanthidin, Cymarol und Cymarin für die Trennung von k-Strophanthosid und dessen mutmaßlichen Metaboliten.

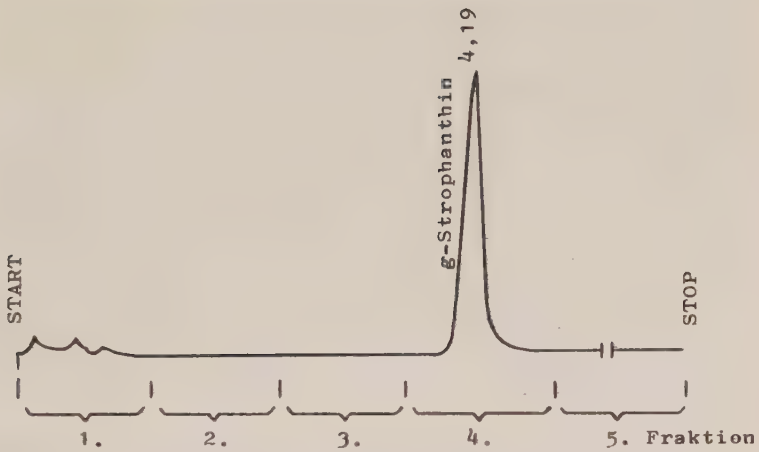


Abb.5 HPLC von Standard-g-Strophanthin für den Nachweis von g-Strophanthin.

Zum Nachweis der möglichen Metaboliten des g-Strophanthins wurde das Chromatogramm in 5 Fraktionen aufgetrennt. Es enthielt die

1.Fraktion: Unbekannte polare Verbindungen
2.Fraktion: Keine Metaboliten
3.Fraktion: Keine Metaboliten
4.Fraktion: g-Strophanthin (RT:4,19 min)
5.Fraktion: Keine Metaboliten.

3.7. Methodik zur Spaltung konjugierter Metaboliten.

Die zu untersuchenden Proben wurden lyophilisiert, der Rückstand wurde in 2 ml Albuminlösung (4 mg/ml Humanalbumin in Pufferlösung) aufgenommen und durch Zugabe verdünnter Essigsäure auf pH 4,5 eingestellt. Der Ansatz wurde mit 0,1 ml β-Glucuronidase/Arylsulfatase versetzt, über Nacht bei 30°C inkubiert und zentrifugiert. Zur Kontrolle der Enzymaktivität wurden gleichzeitig Proben mit 1 mg Phenolphthaleinglucuronid oder 1 mg Phenolphthaleindisulfat mit dem Enzympräparat behandelt. Bei der Spaltung entstandenes Phenolphthalein konnte durch Alkalisieren mit verdünntem Ammoniak nachgewiesen werden.

3.8. Mathematisches Verfahren zur Berechnung kinetischer Daten.

Die kumulativ aufgetragenen Werte der Harnausscheidung nach i.v. und oraler Gabe verlaufen nicht monoexponentiell. Deshalb wurden Anpassungen mit Hilfe eines Exponentialtermes vorgenommen, wobei der Nullpunkt der Meßwerte sukzessiv um jeweils einen Meßpunkt verschoben wurde. Dabei ergab sich die beste Anpassung wenn der Nullpunkt in den 6-Std.- Meßwert gelegt wurde. Es ist deshalb anzunehmen, daß die Harnausscheidungskinetik ab der 6. Std. einer einheitlichen Exponentialfunktion folgt.

Die aus den einzelnen Versuchen gebildeten Mittelwertskurven wurden mit der Funktion $y(t) = A(1-e^{-Kt})$, (A = die auf Unendlich extrapolierte Ausscheidung, K = Eliminationskonstante) über die Methode der kleinsten Quadrate angeglichen.

Die Halbwertszeit der Ausscheidung ($t_{1/2}$) = ln 2 /K. Die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich (B) errechnet sich durch Addieren des 6-Std.-Meßwertes mit der ab der 6. Std. extrapolierten Ausscheidungsmenge (A).

Die enterale Resorption läßt sich aus dem Verhältnis der Gesamtausscheidung nach i.v. und oraler Gabe errechnen. Legt man die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich nach i.v. Gabe als 100 %ige Resorption zugrunde, so errechnet sich ein Resorptionsquotient nach der Formel:

$$\text{Resorptionsquotient (RQ)} = \frac{\text{B (oral)} \times 100}{\text{B (intravenös)}} \ \%.$$

4. Ergebnisse.

In einer ersten Versuchsreihe wurde die renale Glykosidausscheidung nach einmaliger intravenöser oder oraler Gabe von Cymarin, k-Strophanthosid bzw. g-Strophanthin quantitativ über 7 Tage lang gemessen. Dabei erfolgte die radioimmunologische Bestimmung jeweils mit demjenigen Glykosid als unmarkiertem Antigen, das den Versuchspersonen verabreicht worden war. Die als Cymarin, k-Strophanthosid oder g-Strophanthin gemessenen Ausscheidungswerte schließen also deren Metaboliten ein, so daß eine Ungenauigkeit in Kauf genommen werden mußte, wenn diese Metaboliten eine höhere oder niedrigere Affinität zu dem Antikörper besitzen als die Ausgangssubstanzen.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden je 200 µl der ersten vier Harnportionen, d.h. der Ausscheidung der ersten 6 Std., der 6.-12. Std., der 12.-24. Std. und der 24.-48. Std. qualitativ mittels HPLC analysiert und in 5 bzw. 6 Fraktionen aufgetrennt. In der 1. polaren Fraktion erfolgte danach eine Aufspaltung der konjugierten Verbindungen, eine Auftrennung mittels HPLC und anschließend eine radioimmunologische quantitative Bestimmung.

4.1. Renale Ausscheidungskinetik und biologische Verfügbarkeit von Cymarin.

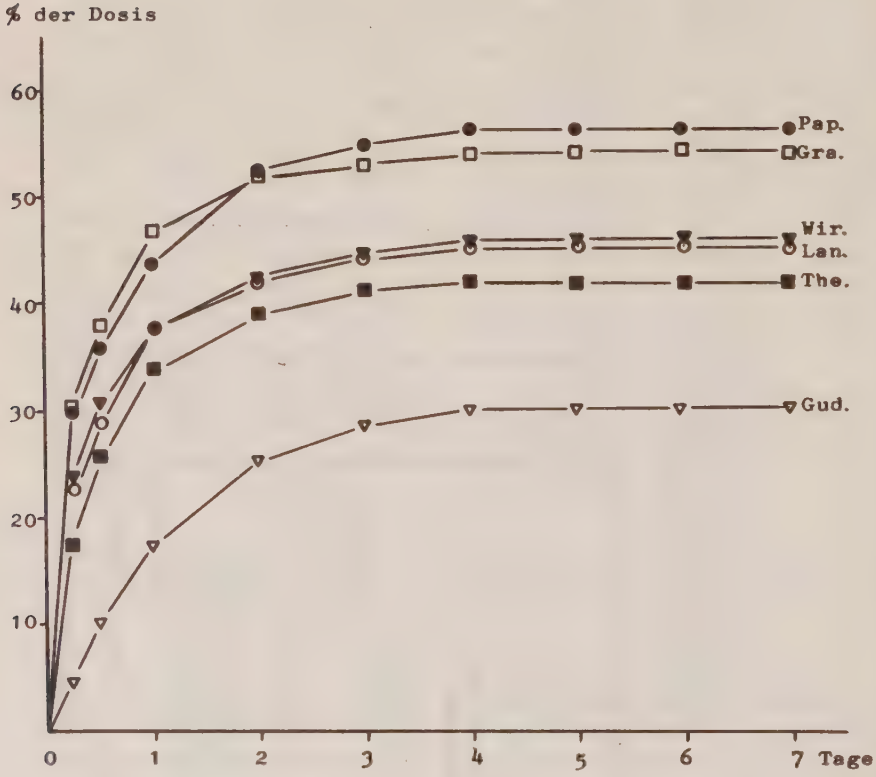
Nach einmaliger intravenöser Injektion von 0,5 mg Cymarin an 6 Versuchspersonen wurde die Glykosidelimination im Harn über einen Zeitraum von 7 Tagen bestimmt. Die kumulative Harnausscheidung ist in Abb.6 und Tab.4 dargestellt. Innerhalb den ersten 24 Std. erschienen durchschnittlich 181 µg (36,2 % der verabreichten Dosis bzw. 79,4 % der Gesamtausscheidung) im Harn (Tab.3). Die

Tab.3 Renale Ausscheidung von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin nach einmaliger intravenöser und oraler Gabe an gesunden, männlichen Versuchspersonen und die hieraus ermittelten Resorptionsquotienten und Halbwertszeiten.

	Cymarin		k-Strophanthosid		g-Strophanthin	
	i.v.	p.o.	i.v.	p.o.	i.v.	p.o.
Dosis (mg)	0,5	3,0	0,5	4,77	0,5	8,0
Anzahl der Versuchspersonen	6	6	5	5	5	6
Ausscheidung						
24 Std.- µg	181	276	103	283	94	10
- % der Dosis	36,2	9,2	20,6	5,9	18,8	0,1
- % der Gesamtausscheidung	79,4	43,1	28,4	52,3	56,6	27,5
7 Tagen - µg	228	641	266	553	161	33
- % der Dosis	45,6	21,4	53,2	11,6	32,2	0,4
Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich - µg	228	641	363	541	166	36,4
- % der Dosis	45,6	21,4	72,6	11,3	33,2	0,5
Resorptionsquotient (%)		46,9		15,6		1,4
Halbwertszeit (Std.)	13,4	23,3	98,9	22,1	22,8	49,7

7-Tage-Ausscheidung beträgt somit 228 µg (45,6 % der verabreichten Dosis). Für die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich ergibt sich der gleiche Wert wie für die Ausscheidung nach 7 Tagen. Die Halbwertszeit der Ausscheidung beträgt 13,4 Std..

Abb.6 Kumulative Cymarin-Ausscheidung im Harn nach intravenöser Injektion von 0,5 mg bei 6 Versuchspersonen in % der verabreichten Dosis.



Vp.	Cymarin-Ausscheidung nach 0,25	0,5	1	2	3	4	5	6	7 Tagen
Gra.	152 (30,4)	191 (38,2)	235 (47,0)	259 (51,8)	266 (53,2)	270 (54,0)	270 (54,0)	270 (54,0)	270 (54,0)
Gud.	24 (4,8)	53 (10,6)	88 (17,6)	127 (25,4)	144 (28,8)	151 (30,2)	151 (30,2)	151 (30,2)	151 (30,2)
Lan.	114 (22,8)	144 (28,8)	188 (37,6)	210 (42,0)	222 (44,4)	227 (45,4)	227 (45,4)	227 (45,4)	227 (45,4)
Pap.	149 (29,8)	179 (35,8)	219 (43,8)	261 (52,2)	274 (54,8)	282 (56,4)	282 (56,4)	282 (56,4)	282 (56,4)
The.	88 (17,6)	130 (26,0)	170 (34,0)	196 (39,2)	206 (41,2)	210 (42,0)	210 (42,0)	210 (42,0)	210 (42,0)
Wir.	120 (24,0)	154 (30,8)	188 (37,6)	214 (42,8)	223 (44,6)	229 (45,8)	229 (45,8)	229 (45,8)	229 (45,8)
$\bar{x}$	108 (21,6)	142 (28,4)	181 (36,2)	211 (42,2)	223 (44,6)	228 (45,6)	228 (45,6)	228 (45,6)	228 (45,6)
$s_{\bar{x}}$	19 (3,8)	20 (4,0)	21 (4,2)	20 (4,0)	19 (3,8)	19 (3,8)	19 (3,8)	19 (3,8)	19 (3,8)

Tab.4 Kumulative Cymarin-Ausscheidung (µg) im Harn nach intravenöser Injektion von 0,5 mg bei 6 Versuchspersonen (in Klammern Prozent der verabreichten Dosis).

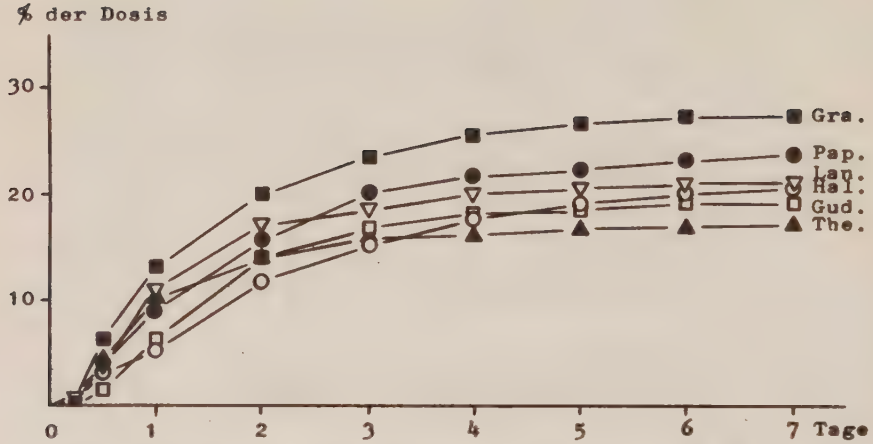


Abb.7 Kumulative Cymarin-Ausscheidung im Harn nach oraler Applikation von 3,0 mg bei 6 Versuchspersonen in % der verabreichten Dosis.

Die kumulative Harnausscheidung von Cymarin nach einmaliger oraler Gabe von 3,0 mg ist in Abb.7 und Tab.5 dargestellt. In den ersten 24 Std. wurden im Mittel 276 µg (9,2 % der verabreichten Dosis oder 43,1 % der Gesamtausscheidung) Cymarin ausgeschieden. Die 7-Tage-Ausscheidung beträgt also im Mittel 641 µg oder 21,4 % der verabreichten Dosis. Für die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich ergibt sich der gleiche Wert wie für die Ausscheidung nach 7 Tagen. Die Halbwertszeit ist mit 23,3 Std. erheblich länger als nach i.v. Gabe (13,4 Std.).

Betrachtet man die renale Ausscheidung nach i.v. Gabe als 100 %ige Verfügbarkeit, so errechnet sich nach oraler Gabe eine Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 46,9 %.

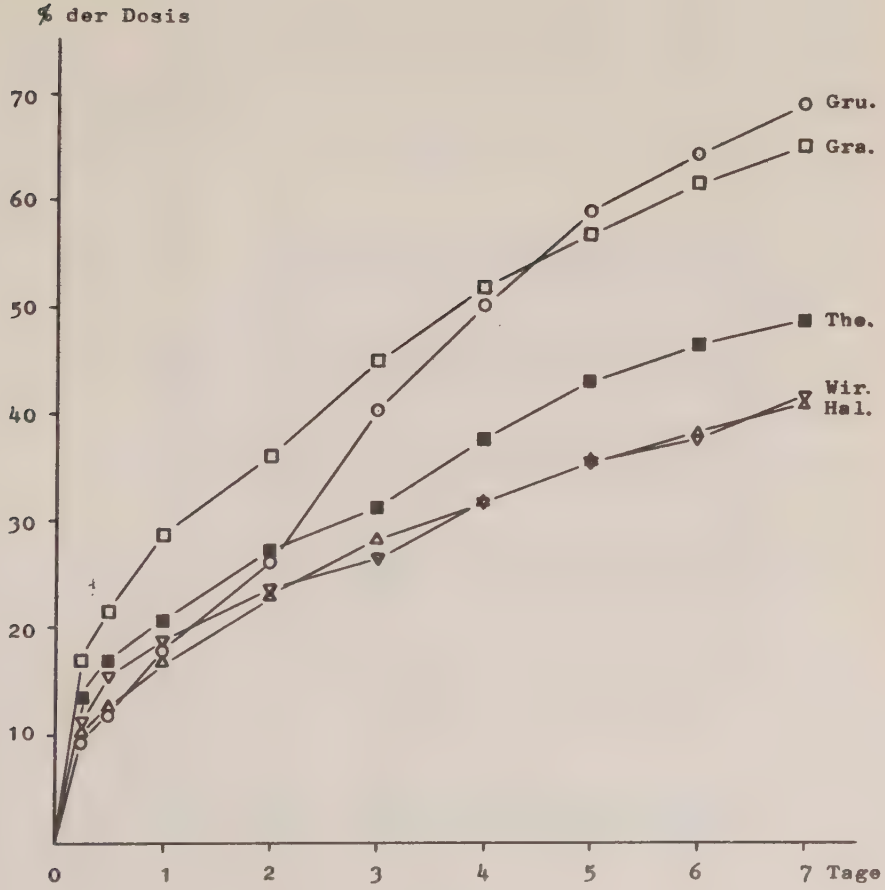
Vp.	Cymarin-Ausscheidung nach								
	0,25	0,5	1	2	3	4	5	6	7 Tagen
Gra.	8 (0,3)	185 (6,2)	396 (13,2)	607 (20,2)	705 (23,5)	763 (25,4)	795 (26,5)	810 (27,0)	818 (27,3)
Gud.	3 (0,1)	44 (1,5)	191 (6,4)	418 (13,9)	504 (16,8)	542 (18,1)	556 (18,5)	567 (18,9)	572 (19,1)
Hal.	10 (0,3)	86 (2,9)	155 (5,2)	345 (11,5)	449 (15,0)	527 (17,6)	566 (18,9)	598 (19,9)	615 (20,5)
Lan.	21 (0,7)	113 (3,8)	339 (11,3)	511 (17,0)	562 (18,7)	595 (19,8)	616 (20,5)	623 (20,8)	628 (20,9)
Pap.	8 (0,3)	124 (4,1)	271 (9,0)	466 (15,5)	602 (20,1)	651 (21,7)	670 (22,3)	691 (23,0)	704 (23,5)
The.	7 (0,2)	129 (4,3)	306 (10,2)	418 (13,9)	462 (15,4)	485 (16,2)	498 (16,6)	504 (16,8)	506 (16,9)
$\bar{x}$	10 (0,3)	114 (3,8)	276 (9,2)	461 (15,4)	547 (18,2)	594 (19,8)	617 (20,6)	632 (21,1)	641 (21,4)
$s_{\bar{x}}$	2 (0,1)	19 (0,6)	37 (1,2)	37 (1,2)	40 (1,3)	41 (1,4)	43 (1,4)	44 (1,5)	44 (1,5)

Tab.5 Kumulative Cymarin-Ausscheidung (µg) im Harn nach oraler Applikation von 3,0 mg bei 6 Versuchspersonen (in Klammern Prozent der verabreichten Dosis).

4.2. Renale Ausscheidungskinetik und biologische Verfügbarkeit von k-Strophanthosid.

Die Glykosidausscheidung im Harn wurde nach intravenöser Injektion von 0,5 mg k-Strophanthosid an 5 Versuchspersonen gemessen. Die Ergebnisse sind in Abb.8 und Tab.6 dargestellt und in Tab.3 den Ergebnissen mit Cymarin gegenübergestellt. Während des ersten Tages nach Verabreichung erschienen 103 µg (20,6 % der verabreichten Dosis oder 28,4 % der Gesamtausscheidung) im Harn. 266 µg oder 53,2 % der verabreichten Dosis sind somit nach 7 Tagen im Harn nachweisbar. Die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich beträgt 363 µg oder 72,6 % der verabreichten Dosis. Die Halbwertszeit beträgt 98,9 Std.

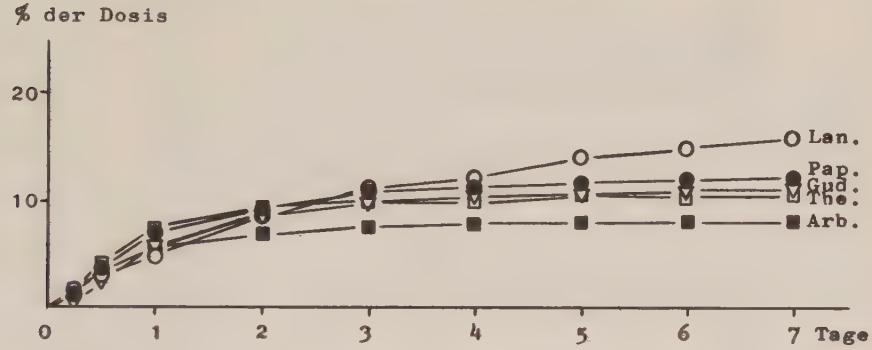
Abb.8 Kumulative k-Strophanthosid-Ausscheidung im Harn nach intravenöser Injektion von 0,5 mg bei 5 Versuchspersonen in % der verabreichten Dosis.



Vp.	k-Strophanthosid-Ausscheidung nach 0,25	0,5	1	2	3	4	5	6	7 Tagen
Gru.	49 (9,8)	60 (12,0)	90 (18,0)	136 (27,2)	202 (40,4)	252 (50,4)	295 (59,0)	322 (64,4)	345 (69,0)
Gra.	85 (17,0)	109 (21,8)	143 (28,6)	179 (35,8)	225 (45,0)	258 (51,6)	285 (57,0)	310 (62,0)	327 (65,4)
Hal.	59 (11,8)	79 (15,8)	94 (18,8)	118 (23,6)	134 (26,8)	160 (32,0)	175 (35,0)	190 (38,0)	208 (41,6)
The.	68 (13,6)	84 (16,8)	104 (20,8)	136 (27,2)	157 (31,4)	189 (37,8)	215 (43,0)	233 (46,6)	245 (49,0)
Wir.	53 (10,6)	65 (13,0)	85 (17,0)	116 (23,2)	141 (28,2)	159 (31,8)	176 (35,2)	194 (38,8)	207 (41,4)
$\bar{X}$	63 (12,6)	79 (15,8)	103 (20,6)	137 (27,4)	172 (34,4)	204 (40,8)	229 (45,8)	250 (50,0)	266 (53,2)
$S_{\bar{X}}$	6 (1,2)	9 (1,8)	10 (2,0)	11 (2,2)	18 (3,6)	22 (4,4)	26 (5,2)	28 (5,6)	29 (5,8)

Tab.6 Kumulative k-Strophanthosid-Ausscheidung (µg) im Harn nach intravenöser Injektion von 0,5 mg bei 5 Versuchspersonen (in Klammern Prozent der verabreichten Dosis).

Abb.9 Kumulative k-Strophanthosid-Ausscheidung im Harn nach oraler Applikation von 4,77 mg bei 5 Versuchspersonen in % der verabreichten Dosis.



Oral erhielten 5 Versuchspersonen 4,77 mg k-Strophanthosid in magensaftresistenter Verkapselung. Die renale Elimination ist in Abb.9 und Tab.7 dargestellt und die Ergebnisse sind in Tab.3 zusammengefaßt. Während der ersten 24 Std. nach der Applikation wurden im Mittel 283 µg (5,9 % der verabreichten Dosis oder 52,3 % der Gesamtausscheidung) im Harn ausgeschieden. Im Verlauf von 7 Tagen erschienen 553 µg oder 11,6 % der Dosis im Harn. Es ergibt sich eine Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich von 541 µg oder 11,3 % der verabreichten Dosis. Es fällt auf, daß die Halbwertszeit oral verabreichten k-Strophanthosids mit 22,1 Std. erheblich kürzer ist als nach i.v. Gabe (98,9 Std.) und in der gleichen Größenordnung liegt, wie die oral verabreichten Cymarins (23,3 Std.)

Vergleicht man den Wert der Glykosidausscheidung nach oraler Applikation mit dem nach intravenöser Gabe, so errechnet sich für k-Strophanthosid ein Resorptionsquotient von 15,6 %.

Vp.	k-Strophanthosid-Ausscheidung nach 0,25	0,5	1	2	3	4	5	6	7 Tagen
Arb.	49 (1,0)	150 (3,1)	264 (5,5)	334 (7,0)	355 (7,4)	370 (7,8)	379 (7,9)	384 (8,1)	386 (8,1)
Gud.	26 (0,5)	113 (2,4)	259 (5,4)	405 (8,5)	469 (9,8)	499 (10,5)	516 (10,8)	523 (11,0)	527 (11,0)
Lan.	78 (1,6)	137 (2,9)	221 (4,6)	407 (8,5)	518 (10,9)	582 (12,2)	678 (14,2)	721 (15,1)	761 (16,0)
Pap.	61 (1,3)	171 (3,6)	327 (6,9)	444 (9,3)	512 (10,7)	533 (11,2)	563 (11,8)	574 (12,0)	582 (12,2)
The.	77 (1,6)	197 (4,1)	345 (7,2)	444 (9,3)	471 (9,9)	493 (10,1)	504 (10,6)	509 (10,7)	511 (10,7)
$\bar{X}$	58 (1,2)	154 (3,2)	283 (5,9)	407 (8,5)	465 (9,7)	495 (10,4)	528 (11,1)	542 (11,4)	553 (11,6)
$S_{\bar{X}}$	10 (0,2)	14 (0,3)	23 (0,5)	20 (0,4)	29 (0,6)	35 (0,7)	48 (1,0)	55 (1,2)	61 (1,3)

Tab.7 Kumulative k-Strophanthosid-Ausscheidung (µg) im Harn nach oraler Applikation von 4,77 mg bei 5 Versuchspersonen (in Klammern Prozent der verabreichten Dosis).

4.3. Renale Ausscheidungskinetik und biologische Verfügbarkeit von g-Strophanthin.

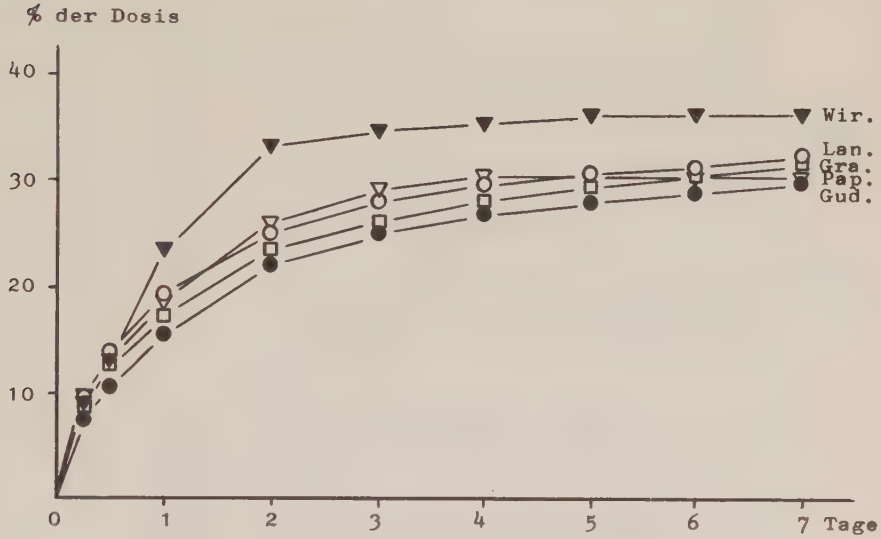


Abb.10 Kumulative g-Strophanthin-Ausscheidung im Harn nach intravenöser Injektion von 0,5 mg bei 5 Versuchspersonen in % der verabreichten Dosis.

Nach einmaliger intravenöser Injektion von 0,5 mg g-Strophanthin an 5 Versuchspersonen wurde die Ausscheidung im Harn über 7 Tage bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb.10 und Tab.8 dargestellt und in Tab.3 zusammengefaßt. 94 µg (18,8 % der verabreichten Dosis oder 56,6 % der Gesamtausscheidung) waren in den ersten 24 Std. nach der Verabreichung im Harn nachweisbar. Die 7-Tage-Ausscheidung liegt im Mittel bei 161 µg oder 32,2 % der verabreichten Dosis. Es ergibt sich eine Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich von 166 µg oder 33,2 % der verabreichten Dosis. Die Halbwertszeit beträgt 22,8 Std.

Vp.	g-Strophanthin-Ausscheidung nach 0,25	0,5	1	2	3	4	5	6	7 Tagen
Gra.	44 (8,8)	62 (12,4)	85 (17,0)	117 (23,4)	131 (26,2)	141 (28,2)	147 (29,4)	154 (30,8)	159 (31,8)
Gud.	38 (7,6)	52 (10,4)	78 (15,6)	110 (22,0)	125 (25,0)	134 (26,8)	140 (28,0)	145 (29,0)	150 (30,0)
Lan.	48 (9,6)	69 (13,8)	96 (19,2)	125 (25,0)	141 (28,2)	148 (29,6)	154 (30,8)	159 (31,8)	162 (32,4)
Pap.	49 (9,8)	65 (13,0)	93 (18,6)	129 (25,8)	144 (28,8)	152 (30,4)	152 (30,4)	152 (30,4)	152 (30,4)
Wir.	45 (9,0)	66 (13,2)	118 (23,6)	166 (33,2)	172 (34,4)	177 (35,4)	180 (36,0)	181 (36,2)	181 (36,2)
$\bar{X}$	45 (9,0)	63 (12,6)	94 (18,8)	129 (25,8)	143 (28,6)	150 (30,0)	155 (31,0)	158 (31,6)	161 (32,2)
$S_{\bar{X}}$	2 (0,4)	3 (0,6)	7 (1,4)	10 (2,0)	8 (1,6)	7 (1,4)	7 (1,4)	6 (1,2)	6 (1,2)

Tab.8 Kumulative g-Strophanthin-Ausscheidung (µg) im Harn nach intravenöser Injektion von 0,5 mg bei 5 Versuchspersonen (in Klammern Prozent der verabreichten Dosis).

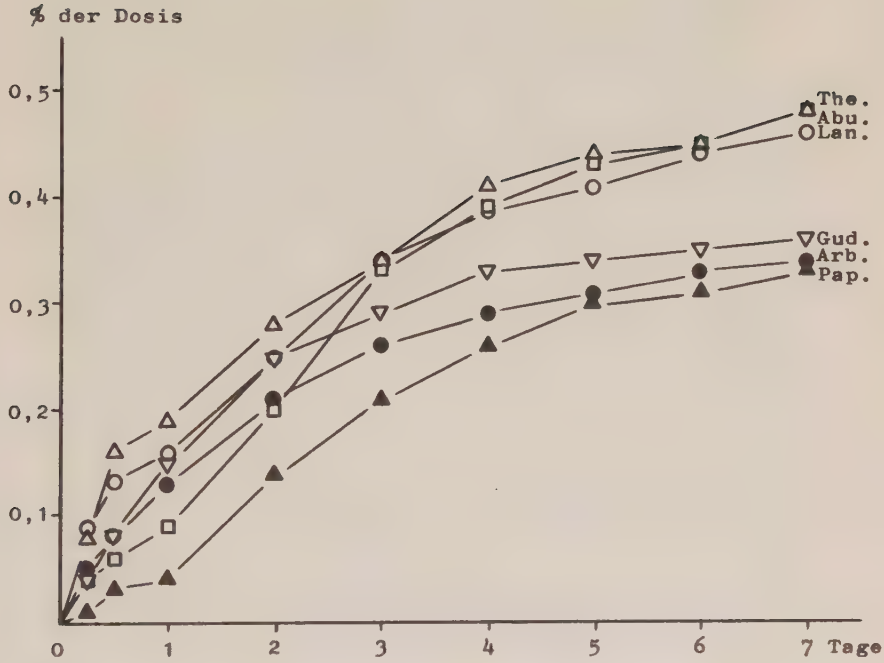


Abb.11 Kumulative g-Strophanthin-Ausscheidung im Harn nach oraler Applikation von 8,0 mg bei 6 Versuchspersonen in % der verabreichten Dosis.

8,0 mg g-Strophanthin wurde oral 6 Versuchspersonen verabreicht und die Glykosidausscheidung über 7 Tage bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb.11 und Tab.9 dargestellt. Obwohl die Ausscheidung sehr niedrig ist, wird noch bis zum 7. Tag nach der Applikation g-Strophanthins im Harn nachgewiesen. 10 µg (0,1 % der verabreichten Dosis oder 27,5 % der Gesamtausscheidung) waren in den ersten 24 Std. nach der Verabreichung im Harn nachweisbar. Im Verlauf von 7 Tagen wurden 33 µg oder 0,4 % der

Vp.	g-Strophanthin-Ausscheidung nach 0,25	0,5	1	2	3	4	5	6	7 Tagen
Abu.	3 (0,04)	5 (0,06)	7 (0,09)	16 (0,20)	26 (0,33)	31 (0,39)	34 (0,43)	36 (0,45)	38 (0,48)
Arb.	4 (0,05)	6 (0,08)	10 (0,13)	17 (0,21)	21 (0,26)	23 (0,29)	25 (0,31)	26 (0,33)	27 (0,34)
Gud.	3 (0,04)	6 (0,08)	12 (0,15)	20 (0,25)	23 (0,29)	26 (0,33)	27 (0,34)	28 (0,35)	29 (0,36)
Lan.	7 (0,09)	10 (0,13)	13 (0,16)	20 (0,25)	27 (0,34)	31 (0,39)	33 (0,41)	35 (0,44)	37 (0,46)
Pap.	1 (0,01)	2 (0,03)	3 (0,04)	11 (0,14)	17 (0,21)	21 (0,26)	24 (0,30)	25 (0,31)	26 (0,33)
The.	6 (0,08)	13 (0,16)	15 (0,19)	22 (0,28)	27 (0,34)	33 (0,41)	35 (0,44)	36 (0,45)	38 (0,48)
$\bar{X}$	4 (0,05)	7 (0,09)	10 (0,13)	18 (0,23)	24 (0,30)	28 (0,35)	30 (0,38)	31 (0,39)	33 (0,41)
$S_{\bar{X}}$	0,9 (0,01)	2 (0,03)	2 (0,03)	2 (0,03)	2 (0,03)	2 (0,03)	2 (0,03)	2 (0,03)	2 (0,03)

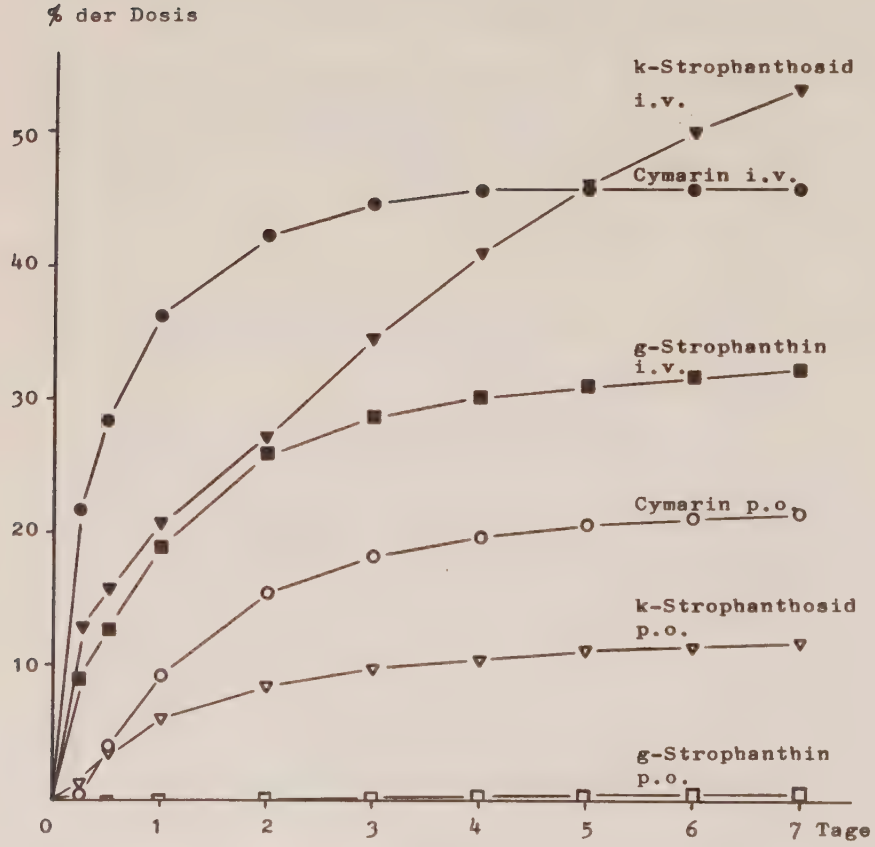
Tab.9 Kumulative g-Strophanthin-Ausscheidung (µg) im Harn nach oraler Applikation von 8,0 mg bei 6 Versuchspersonen (in Klammern Prozent der verabreichten Dosis).

verabreichten Dosis. Es ergibt sich eine Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich von 36,4 µg oder 0,5 % der verabreichten Dosis. Die Halbwertszeit beträgt 49,7 Std. und ist erheblich länger als nach intravenöser Gabe (22,8 Std.).

Durch Vergleich mit der Ausscheidung nach oraler bzw. intravenöser Gabe errechnet sich eine biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 1,4 %.

Die Mittelwerte der kumulativen Harnausscheidung nach intravenöser und oraler Gabe von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin sind in Abb.12 gegenübergestellt.

Abb.12 Die kumulative Harnausscheidung im Mittel nach intravenöser und oraler Gabe von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin in % der verabreichten Dosis.



4.4. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten nach Gabe von Cymarin.

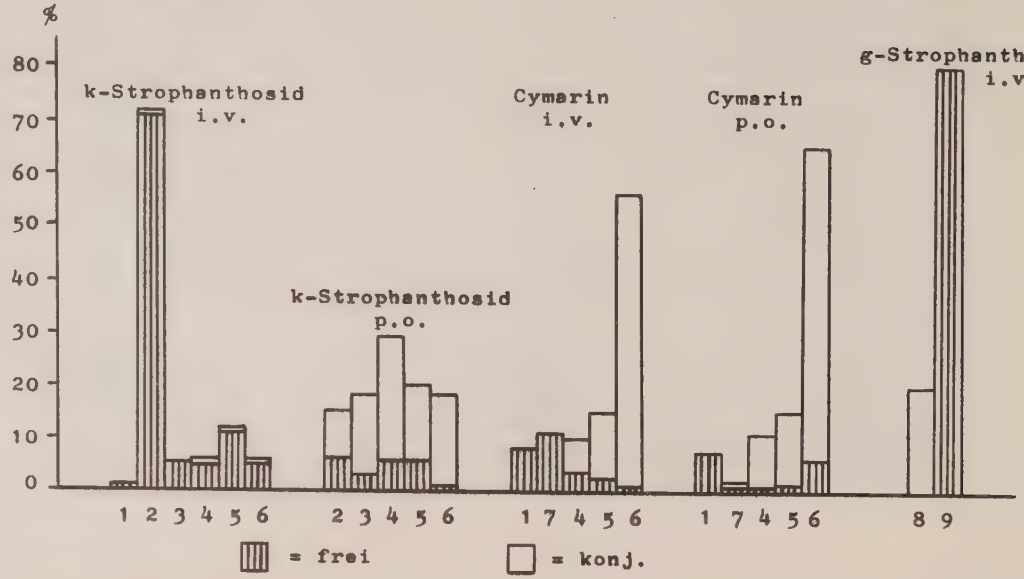
Nach i.v. Gabe von Cymarin zeigte sich, daß im Mittel 83,5 % der insgesamt radioimmunologisch nachweisbaren Verbindungen in der ersten Fraktion des Chromatogramms erschienen, also polaren Charakter besitzten. Weniger als 1 % der nachweisbaren Verbindungen konnten als freies Cymarin identifiziert werden. Mit durchschnittlich 10,8 % war Strophanthidol das einzige Abbauprodukt, das in nennenswerten Maße in freier Form im Harn erschien (Tab.10). Die in der ersten Fraktion nachweisbaren Verbindungen wurden einer Glucuronidase/Arylsulfatase-Spaltung unterworfen und die Spaltprodukte erneut chromatographisch aufgetrennt. Dabei zeigte sich, daß in dieser Fraktion 55,2 % der insgesamt radioimmunologisch nachweisbaren Verbindungen als konjugiertes Cymarin, 12,2 % als konjugiertes Cymarol und 8,0 % als konjugiertes k-Strophanthidin enthalten waren. 8,1 % der nachweisbaren Verbindungen erschienen auch nach der enzymatischen Spaltung in der polaren Fraktion und waren nicht zu identifizieren (Tab.10). Setzt man den im Nativharn nachgewiesenen Glykosidgehalt gleich 100 % und addiert die nach der chromatographischen Trennung nachweisbaren Verbindungen, so ergibt sich eine Wiederfindungsrate von 102,4 $\pm$ 8,4 %. Die Ergebnisse diese Untersuchung sind in Abb.13 graphisch dargestellt.

Zeitraum der Sammel-periode	1.Fraktion			2.Fraktion k-Strophan-thidol		3.Fraktion k-Strophan-thidin		4.Fraktion Cymarol		5.Fraktion Cymarin	
(Std.)	gesamt	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.
0-6	76,1 (8,6)	1,7 (1,7)	74,4 (8,6)	17,1 (9,9)	0 (0)	2,6 (1,0)	5,4 (1,9)	3,0 (2,1)	4,2 (1,8)	1,3 (0,6)	64,8 (8,6)
6-12	85,8 (4,0)	2,5 (1,8)	83,3 (4,5)	12,2 (3,7)	0 (0)	2,0 (1,3)	12,9 (3,7)	0 (0)	19,1 (4,3)	0 (0)	51,3 (4,3)
12-24	83,0 (4,1)	8,7 (4,0)	74,3 (6,8)	9,5 (3,7)	0 (0)	1,3 (1,3)	6,6 (3,0)	4,5 (2,9)	10,9 (3,6)	1,7 (1,7)	56,8 (7,9)
24-48	89,2 (4,1)	19,4 (9,0)	69,8 (9,7)	4,3 (4,3)	0 (0)	3,8 (2,5)	7,1 (3,7)	2,8 (2,8)	14,8 (5,7)	0 (0)	47,9 (8,1)
Mittel-wert	83,5 (2,8)	8,1 (4,1)	75,4 (2,8)	10,8 (2,7)	0 (0)	2,4 (0,5)	8,0 (1,7)	2,6 (0,9)	12,2 (3,2)	0,7 (0,4)	55,2 (3,7)

Tab.10 Chromatographische Analyse des Harnes nach einmaliger intravenöser Gabe von 0,5 mg Cymarin. Die Werte für konjugierte Verbindungen wurden mit Hilfe eines 2. Chromatogramms nach enzymatischer Abspaltung der 1. Fraktion durch Glucuronidase/Arylsulfatase gewonnen. Die angegebenen Zahlen bedeuten Prozent der insgesamt radioimmunologisch nachgewiesenen Verbindungen - Mittelwert von 6 Versuchspersonen und in Klammern der mittlere Fehler der Mittelwerte.

Abb.13 Chromatographische Analyse des Harns nach einmaliger intravenöser und oraler Gabe von k-Strophanthosid und Cymarin; nach einmaliger intravenöser Gabe von g-Strophanthin. Die Höhe der einzelnen Säulen bedeutet Prozent der insgesamt radioimmunologisch nachgewiesenen Verbindungen im Mittel.

1 = Unbekannte polare Verbindungen
2 = k-Strophanthosid
3 = k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol
4 = k-Strophanthidin
5 = Cymarol
6 = Cymarin
7 = k-Strophanthidol
8 = Unbekannte polare Verbindungen
9 = g-Strophanthin



Nach oraler Verabreichung von 3,0 mg Cymarin war die Glykosidkonzentration in der ersten Harnportion (0-6 Std.) so niedrig, daß ein Nachweis von Metaboliten nicht möglich war. In den späteren Harnportionen (6-72 Std.) erschienen 90,9 % der insgesamt immunologisch nachweisbaren Verbindungen in der ersten Fraktion des Chromatogramms (Tab.11). Nur 5,8 % der nachweisbaren Gesamtmenge konnten als unverändertes Cymarin identifiziert werden. Die enzymatische Spaltung der in der ersten Fraktion enthaltenen Konjugate lieferte 59,3 % Cymarin neben 13,1 % Cymarol und 10,2 % k-Strophanthidin. 7,4 % der insgesamt nachweisbaren Metaboliten erschienen auch nach der Glucuronidase/Arylsulfatase-Spaltung in der ersten Fraktion des Chromatogramms und konnten nicht identifiziert werden. Die Wiederfindungsrate nach chromatographischer Trennung betrug 104,9 $\pm$ 5,1 %. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abb.13 graphisch dargestellt.

Zeitraum der Sammel-periode	1.Fraktion			2.Fraktion k-Strophan-thidol		3.Fraktion k-Strophan-thidin		4.Fraktion Cymarol		5.Fraktion Cymarin	
(Std.)	gesamt	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.
6-12	92,5 (1,7)	7,4 (3,1)	85,1 (4,2)	1,1 (0,3)	0 (0)	1,6 (0,5)	6,8 (2,5)	0,8 (0,3)	18,4 (8,1)	4,0 (1,3)	59,9 (7,3)
12-24	93,2 (1,2)	5,3 (2,7)	87,9 (2,6)	0,7 (0,3)	0 (0)	1,3 (0,4)	12,9 (1,4)	2,2 (0,5)	11,8 (2,4)	2,6 (0,6)	63,2 (4,8)
24-48	92,2 (2,3)	0 (0)	92,2 (2,3)	0,8 (0,5)	0 (0)	0,6 (0,6)	12,8 (5,8)	1,1 (0,6)	16,1 (8,3)	5,4 (2,0)	63,3 (10,5)
48-72	85,6 (5,4)	16,9 (10,7)	68,7 (10,4)	0,5 (0,4)	3,5 (2,3)	0,3 (0,3)	8,1 (6,0)	2,3 (1,0)	6,2 (4,1)	11,3 (5,7)	50,9 (13,2)
Mittel-wert	90,9 (1,8)	7,4 (3,5)	83,5 (5,1)	0,8 (0,1)	0,9 (0,9)	0,9 (0,3)	10,2 (1,6)	1,6 (0,4)	13,1 (2,7)	5,8 (1,9)	59,3 (2,9)

Tab.11 Chromatographische Analyse des Harnes nach einmaliger oraler Gabe von 3,0 mg Cymarin. Die Werte für konjugierte Verbindungen wurden mit Hilfe eines 2. Chromatogramms nach enzymatischer Abspaltung der 1. Fraktion durch Glucuronidase/Arylsulfatase gewonnen. Die angegebenen Zahlen bedeuten Prozent der insgesamt radioimmunologisch nachgewiesenen Verbindungen - Mittelwert von 6 Versuchspersonen und in Klammern der mittlere Fehler der Mittelwerte.

4.5. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten nach Gabe von k-Strophanthosid.

Nach i.v. Gabe von k-Strophanthosid zeigte sich, daß 70,2 % der insgesamt nachweisbaren Verbindungen als unverändertes k-Strophanthosid im Harn ausgeschieden wurden (Tab.12). An 2. Stelle steht freies Cymarol mit 10,7 %. Daneben entstehen geringe Menge Cymarin, k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol und k-Strophanthidin. Nur in 2 von 20 untersuchten Harnportionen waren in der ersten Fraktion des Chromatogramms geringe Mengen polarer Verbindungen nachweisbar. Nach Spaltung mit Glucuronidase/Arylsulfatase ließen sich in diesen Proben Cymarol, k-Strophanthidin, k-Strophanthosid und Cymarin neben nicht identifizierbaren polaren Metaboliten nachweisen. Die Wiederfindungsrate nach chromatographischer Trennung betrug 117,8 $\pm$ 8,3 %. Die Ergebnisse sind in Abb.13 graphisch dargestellt.

Zeitraum der Sammel-periode	1.Fraktion			2.Fraktion k-Strophan-thosid		3.Fraktion k-Strophan-thin-β bzw. k-Strophan-thidol		4.Fraktion k-Strophan-thidin		5.Fraktion Cymarol		6.Fraktion Cymarin	
(Std.)	gesamt	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.
0-6	7,1 (7,1)	1,7 (1,7)	5,4 (5,4)	77,3 (4,2)	1,2 (1,2)	3,8 (1,1)	0 (0)	4,1 (1,7)	1,7 (1,7)	4,4 (2,4)	2,5 (2,5)	3,3 (3,3)	0 (0)
6-12	9,9 (9,9)	2,3 (2,3)	7,6 (7,6)	69,9 (14,5)	1,4 (1,4)	4,9 (2,0)	0 (0)	0 (0)	2,1 (2,1)	9,5 (5,8)	2,2 (2,2)	5,8 (4,0)	1,9 (1,9)
12-24	0 (0)	0 (0)	0 (0)	76,0 (6,9)	0 (0)	6,7 (1,8)	0 (0)	7,0 (7,0)	0 (0)	3,6 (3,6)	0 (0)	6,6 (6,6)	0 (0)
24-48	0 (0)	0 (0)	0 (0)	57,4 (4,8)	0 (0)	4,5 (2,9)	0 (0)	7,6 (4,7)	0 (0)	25,4 (3,2)	0 (0)	5,1 (5,1)	0 (0)
Mittel-wert	4,2 (2,5)	1,0 (0,6)	3,2 (1,9)	70,2 (4,5)	0,6 (0,4)	5,0 (0,6)	0 (0)	4,7 (1,7)	0,9 (0,6)	10,7 (5,1)	1,2 (0,7)	5,2 (0,7)	0,5 (0,5)

Tab.12 Chromatographische Analyse des Harnes nach einmaliger intravenöser Gabe von 0,5 mg k-Strophanthosid. Die Werte für konjugierte Verbindungen wurden mit Hilfe eines 2. Chromatogramms nach enzymatischer Abspaltung der 1. Fraktion durch Glucuronidase/Arylsulfatase gewonnen. Die angegebenen Zahlen bedeuten Prozent der insgesamt radioimmunologisch nachgewiesenen Verbindungen - Mittelwert von 5 Versuchspersonen und in Klammern der mittlere Fehler der Mittelwerte.

Nach oraler Verabreichung von 4,77 mg k-Strophanthosid an 5 Versuchspersonen erschienen 79,5 % der insgesamt radioimmunologisch nachweisbaren Verbindungen als stark polare Verbindungen in der ersten Fraktion des Chromatogramms (Tab.13). Nur 6,0 % der immunologisch nachweisbaren Glykosidmenge konnten als unverändertes k-Strophanthosid identifiziert werden. Daneben entstanden in geringen Mengen freies Cymarol, k-Strophanthidin, k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol und Cymarin. Die Glucuronidase/Arylsulfatase-Spaltung der in der ersten Fraktion des Chromatogramms enthaltenen polaren Verbindungen lieferte im Mittel 23,7 % k-Strophanthidin, 17,0 % Cymarin, 15,2 % k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol, 14,5 % Cymarol und 9,1 % k-Strophanthosid. k-Strophanthosid wird also nach oraler Verabreichung anders als nach i.v. Gabe überwiegend in Form von Metaboliten ausgeschieden, die an Glucuronsäure oder Schwefelsäure gekoppelt sind. Die Wiederfindungsrate nach chromatographischer Trennung betrug 120 $\pm$ 8,5 %. Die Ergebnisse sind in Abb.13 graphisch dargestellt.

Zeitraum der Sammel-periode	1.Fraktion			2.Fraktion k-Strophan-thosid		3.Fraktion k-Strophan-thin-β bzw. k-Strophan-thidol		4.Fraktion k-Strophan-thidin		5.Fraktion Cymarol		6.Fraktion Cymarin	
(Std.)	gesamt	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.	frei	konj.
0-6	66,4 (4,8)	0 (0)	66,4 (4,8)	7,3 (1,2)	10,6 (3,0)	6,2 (0,9)	10,6 (2,1)	14,4 (3,4)	18,0 (3,9)	4,8 (0,3)	15,1 (3,6)	1,0 (1,0)	12,0 (2,8)
6-12	80,9 (1,4)	0 (0)	80,9 (1,4)	6,6 (1,0)	6,9 (1,5)	2,6 (0,5)	24,2 (4,9)	4,1 (0,5)	21,6 (1,6)	5,3 (0,9)	10,7 (1,7)	0,6 (0,6)	17,5 (2,5)
12-24	82,4 (1,9)	0 (0)	82,4 (1,9)	5,7 (0,8)	8,5 (2,4)	1,5 (0,4)	14,2 (1,1)	2,3 (1,0)	26,4 (4,0)	7,1 (1,0)	18,3 (3,1)	1,0 (1,0)	14,9 (3,2)
24-48	88,2 (1,1)	0 (0)	88,2 (1,1)	4,5 (0,8)	10,6 (1,5)	1,3 (0,8)	11,7 (1,4)	0,4 (0,3)	28,7 (4,4)	5,1 (1,5)	13,9 (2,4)	0,4 (0,4)	23,4 (4,2)
Mittel-wert	79,5 (4,6)	0 (0)	79,5 (4,6)	6,0 (0,6)	9,1 (0,9)	2,9 (1,1)	15,2 (3,1)	5,3 (3,1)	23,7 (2,4)	5,6 (0,5)	14,5 (1,6)	0,7 (0,1)	17,0 (2,4)

Tab.13 Chromatographische Analyse des Harnes nach einmaliger oraler Gabe von 4,77 mg k-Strophanthosid. Die Werte für konjugierte Verbindungen wurden mit Hilfe eines 2. Chromatogramms nach enzymatischer Abspaltung der 1. Fraktion durch Glucuronidase/Arylsulfatase gewonnen. Die angegebenen Zahlen bedeuten Prozent der insgesamt radioimmunologisch nachgewiesenen Verbindungen - Mittelwert von 5 Versuchspersonen und in Klammern der mittlere Fehler der Mittelwerte.

4.6. Nachweis und quantitative Bestimmung der Metaboliten nach Gabe von g-Strophanthin.

Nach i.v. Gabe von 0,5 mg g-Strophanthin an 5 Versuchspersonen konnten 80,0 % der insgesamt immunologisch nachweisbaren Glykosidmenge als unverändertes g-Strophanthin identifiziert werden (Tab.14). 20,0 % fanden sich als polare Verbindungen in den ersten Fraktion des Chromatogramms. Dabei fällt auf, daß der Anteil an polaren Metaboliten von der ersten (0-6 Std.) bis 4. Sammelfraktion (2. Tag) deutlich ansteigt. Eine Identifikation dieser Verbindungen war nicht möglich, da die Spaltung mit Glucuronidase/Arylsulfatase keine verwertbaren Ergebnisse lieferte. Die Wiederfindungsrate nach chromatographischer Trennung betrug 125,4 $\pm$ 4,5 %. Die Ergebnisse sind in Abb.13 graphisch dargestellt.

Eine chromatographische Auftrennung der nach oraler Gabe von 8,0 mg g-Strophanthin im Harn nachweisbaren Verbindungen war wegen ihrer geringen Konzentration nicht möglich.

Zeitraum der Sammelperiode (Std.)	1. Fraktion unbekannte polare Verbindungen	2.Fraktion	3.Fraktion	4.Fraktion g-Strophanthin	5.Fraktion
0-6	6,9 (1,3)	0 (0)	0 (0)	93,1 (8,9)	0 (0)
6-12	21,0 (2,8)	0 (0)	0 (0)	79,0 (2,8)	0 (0)
12-24	21,0 (3,7)	0 (0)	0 (0)	79,0 (3,7)	0 (0)
24-48	31,1 (3,7)	0 (0)	0 (0)	68,9 (3,7)	0 (0)
Mittelwert	20,0 (2,4)	0 (0)	0 (0)	80,0 (2,4)	0 (0)

Tab.14 Chromatographische Analyse des Harnes nach einmaliger intravenöser Gabe von 0,5 mg g-Strophanthin. Die angegebenen Zahlen bedeuten Prozent der insgesamt radioimmunologisch nachgewiesenen Verbindungen - Mittelwert von 5 Versuchspersonen und in Klammern der mittlere Fehler der Mittelwerte.

5. Diskussion.

5.1. Cymarin.

Unsere Untersuchungen ergeben, daß die Ausscheidungskinetik des Cymarins bei gesunden Versuchspersonen deutlich von der Verabreichungsform abhängt. Nach i.v. Injektion wird Cymarin mit einer Halbwertszeit von 13,4 Std. schneller renal eliminiert als nach oraler Gabe ($t_{1/2}$ = 23,3 Std.). Vergleichsweise fanden Wirth et al. (1979) nach i.v. Gabe eine Halbwertszeit von 19 Std.. In den ersten 24 Std. erscheinen nach i.v. Gabe etwa 80 % und nach oraler Gabe dagegen nur etwa 40 % der insgesamt eliminierten Menge im Harn. Die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich beträgt nach i.v. Gabe 45,6 % und nach oraler Gabe 21,4 % der verabreichten Dosis. Der Rest wird vermutlich über den Darm ausgeschieden. Gundert-Remy et al.(1978) fanden bei i.v. Injektion von ^{3}H-Cymarol etwa 30 % der Radioaktivität im Harn und die Restaktivität in den Fäzes. Wirth et al. (1979) fanden auch radioimmunologisch eine niedrigere Gesamtausscheidung von 35 % (i.v.) und 12 % (p.o.) der verabreichten Dosis.

Die Auftrennung des Nativharns mittels HPLC führt zu dem Ergebnis, daß sich der Metabolismus von Cymarin nach i.v. und oraler Gabe nicht wesentlich unterscheidet. Etwa 80 % der radioimmunologisch nachweisbaren Verbindungen werden als Schwefelsäure- oder Glucuronsäurekonjugate identifiziert. Mehr als die Hälfte der Metaboliten bestehen aus konjugiertem Cymarin. Die übrigen konjugierten Verbindungen setzen sich aus Cymarol, k-Strophanthidin und k-Strophanthidol zusammen. Die restlichen 20 % der nachweisbaren Verbindungen bestehen aus k-Strophanthidin, k-Strophanthidol und Cymarol in freier

Form neben geringen Mengen nicht identifizierbarer polarer Verbindungen. Unverändertes Cymarin ist nur in Spuren nachweisbar. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß der Metabolismus von Cymarin über drei Wege erfolgt:

1. Eine hydrolytische Abspaltung der Cymarose mit Bildung von k-Strophanthidin.
2. Eine Reduktion der Aldehydgruppe am C-19 des Cymarins und k-Strophanthidins, wobei Cymarol und k-Strophanthidol entstehen. Die Abspaltung der Cymarose und die Reduktion der Aldehydgruppe wurden auch von Moerman (1965), von Lauterbach (1964) und von Lauterbach und Repke (1960) an Ratten beobachtet.
3. Eine Konjugation von Cymarin und dessen Abbauprodukten mit Schwefelsäure oder Glucuronsäure - diese Kopplung könnte am Zuckerrest oder am C-3 Atom des Genins eintreten (Rietbrock et al.,1977).

Die beschriebenen Reaktionen liefern Metaboliten höherer Polarität und erklären die schnelle renale Elimination von Cymarin.

5.2. k-Strophanthosid.

k-Strophanthosid wird nach i.v. Injektion trotz seiner höheren Polarität mit einer Halbwertszeit von 98,9 Std. langsamer als Cymarin aber zu einem höheren Prozentsatz renal eliminiert. Die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich beträgt 72,6 % der verabreichten Dosis, wobei 28 % innerhalb den ersten 24 Std. im Harn erscheinen. Die Halbwertszeit entspricht dem radioimmunologisch bestimmten Wert von Wirth et al.(1979) mit 93 Std. und dem Wert von Ghirardi et al.(1973) mit 80 Std. nach rektaler Gabe von ^{3}H-k-Strophanthosid (Tab.15). Sie steht im Widerspruch zu den Werten von Brass und Philipps (1970) und von Marzo et al.(1976), die nach

Tab.15 Renale Ausscheidungskinetik und enterale Resorption von k-Strophanthosid (* aus dem Abfall des Blutspiegels bestimmt).

Autor	Methode	Dosis	renale Ausscheidung		$t_{1/2}$ (Std.)	RQ (%)
			Zeit(Std.)	% der Dosis		
Brass u.Philipps (1970)	^3H	48µCi(0,25mg) i.v.	168	68	18*	-
Marzo et al. (1976)	^3H	131µCi(0,25mg) i.v.	24	37-42	16*	-
			∞	53	-	-
		i.m.	24	32-33	18*	-
			∞	51	-	-
Wirth et al. (1979)	RIA	0,5 mg i.v.	∞	70	93	-
Ghirardi et al. (1973)	^3H	0,25-1,0 mg rektal	24	10-12	80*	31
eigene Ergebnisse	RIA	0,5 mg i.v.	24	20,6	-	-
			∞	72,6	98,9	-
		4,77 mg p.o.	24	5,9	-	-
			∞	11,3	22,1	15,6

i.v. Injektion von ^{3}H-k-Strophanthosid Halbwertszeiten von 15-18 Std. aus dem Abfall der Blutspiegel errechneten. Die von uns beobachtete hohe renale Gesamtausscheidung nach i.v. Injektion von 72,6 % entspricht den Beobachtungen von Wirth et al.(1979) mit 70 % und Brass und Philipps (1970) mit 68 % der verabreichten Dosis, während Marzo et al.(1976) nur 53 % fanden (Tab.15). k-Strophanthosid wird also nach i.v. Gabe überwiegend renal eliminiert. Dafür sprechen auch die Ergebnisse von Marzo et al.(1976) und Brass und Philipps (1970), die bei Patienten mit Niereninsuffizienz eine lange Plasmahalbwertszeit von 33 bzw. 67 Std. (Nierengesunde; $t_{1/2}$ = 15 bzw. 18 Std.) und bei Versuche an cholecystektomierten Patienten nur geringe Ausscheidung mit der Galle fanden.

Untersuchungen über die renale Ausscheidung von oral verabreichtem k-Strophanthosid werden unseres Wissens bisher in der Literatur nicht beschrieben. Unsere Untersuchungen ergeben, daß k-Strophanthosid nach oraler Gabe schneller renal ausgeschieden wird als nach i.v. Gabe. Die Halbwertszeit ist mit 22,1 Std. erheblich kürzer als nach i.v. Injektion (98,9 Std.). Die Ursache der schnellen Elimination nach oraler Applikation ist vermutlich die schnellere Metabolisierung, denn in den ersten 24 Std. werden bereits 52 % der Gesamtausscheidung gefunden (davon etwa 80 % als konjugierte Metaboliten), nach i.v. Injektion dagegen nur 28 % (davon nur etwa 3 % als konjugierte Metaboliten).

Wie schon in der Einleitung besprochen sind von k-Strophanthosid die in Abb.14 dargestellten Metaboliten bekannt. Die Auftrennung des Nativharns mittels HPLC zeigt, daß sich der Metabolismus von k-Strophanthosid nach i.v. und oraler Gabe deutlich unterscheidet. Nach

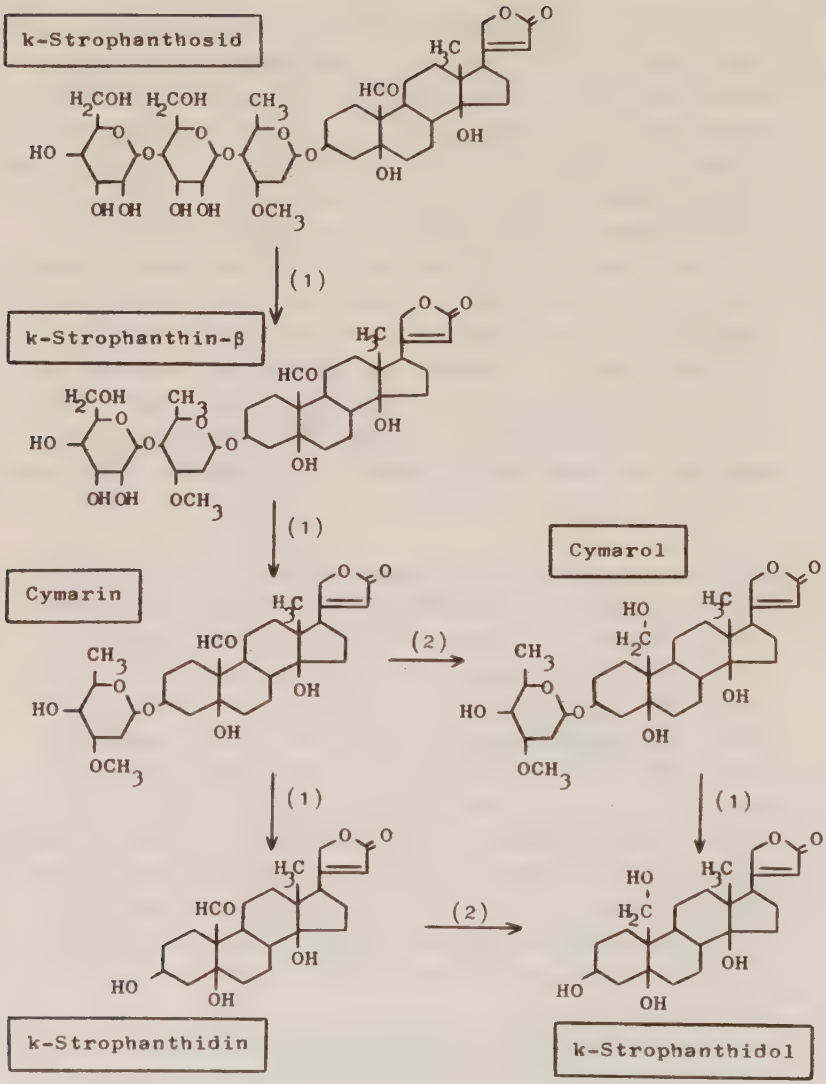


Abb.14 Metabolisierungswege des k-Strophanthins beim Menschen. (1) = Abspaltung der Zuckerreste. (2) = Reduktion der Aldehydgruppe. Alle Substanzen werden mehr oder weniger an Glucuronsäure oder Schwefelsäure konjugiert.

i.v. Injektion wird k-Strophanthosid wenig metabolisiert. Etwa 70 % der nachweisbaren Verbindungen erscheinen als unverändertes k-Strophanthosid im Harn. Die restlichen 30 % verteilen sich auf freies Cymarin, Cymarol, k-Strophanthidin, k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol und spurenweise dessen Glucuronsäure- oder Schwefelsäurekonjugate. Zu ähnlichen Ergebnissen führten Untersuchungen von Marzo et al.(1976): bei Dünnschichtchromatographie des Harns nach i.v. und i.m. Injektion von ^{3}H-k-Strophanthosid fanden sie 95 % der Radioaktivität als unverändertes k-Strophanthosid.

Anders verläuft der Metabolismus von k-Strophanthosid nach oraler Gabe. Etwa 80 % der nachweisbaren Verbindungen sind Glucuronsäure- oder Schwefelsäurekonjugate von k-Strophanthidin, Cymarin, Cymarol, k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol und k-Strophanthosid. Die restlichen 20 % verteilen sich auf die gleichen Verbindungen in freier Form. Unsere Ergebnisse lassen darauf schließen, daß der Metabolismus des k-Strophanthosids in 4 Schritten erfolgt:

1. Eine Abspaltung der Glucosereste, die vermutlich im Darm stattfindet, wonach das dabei entstehende k-Strophanthin-β bzw. Cymarin zur Resorption kommt. Eine solche Zuckerabspaltung mit Bildung von Cymarin durch die Bakterien der Darmflora wurde schon von Greeff (1958) und Engler et al.(1958) bei Ratten beobachtet. Eine Cymarinbildung aus k-Strophanthosid wurde durch Inkubation von k-Strophanthosid mit Fäzes von Mensch, Rind, Hund und Meerschweinchen in vitro nachgewiesen (Engler et al.,1958).
2. Eine weiter Abspaltung der restlichen Zucker (Glucose und Cymarose), die zur Bildung des Aglykons k-Strophanthidin führt.
3. Eine Reduktion der Aldehydgruppe am C-19 des Cymarins

und k-Strophanthidins, wobei Cymarol und k-Strophanthidol entstehen.
4. Eine Konjugation von k-Strophanthosid und dessen Abbauprodukten mit Glucuronsäure oder Schwefelsäure.
Die 2. 3. und 4. Schritte der Metabolisierung erfolgen wahrscheinlich in der Leber (S.5.1.). Sie liefern Metaboliten hoher Polarität und erklären die schnelle Elimination von k-Strophanthosid nach oraler Gabe.

5.3. g-Strophanthin.

Die renale Elimination von g-Strophanthin ist ähnlich wie die des Cymarins, d.h. es wird nach i.v. Injektion schneller und in einem höheren Prozentsatz ausgeschieden als nach oraler Applikation. Nach i.v. Injektion ergibt sich für g-Strophanthin eine Halbwertszeit von 22,8 Std. und eine Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich von 33 % der verabreichten Dosis, wobei etwa 60 % innerhalb den ersten 24 Std. im Harn erscheinen. Über die Ausscheidungskinetik von g-Strophanthin nach i.v. Gabe wurde von verschiedenen Autoren berichtet (Tab.16). Die Halbwertszeit in unserer Untersuchungen von 22,8 Std. entspricht dem Wert von Selden und Smith (1972) und liegt zwischen den Werten anderer Autoren, die nach Verabreichung von ^{3}H-g-Strophanthin aus dem Abfall des Blutspiegels eine Halbwertszeit zwischen 5,5-50 Std. fanden. Die im Harn radioimmunologisch bestimmten Werte von Greeff et al.(1974) und Verspohl (1973) weisen mit 39 bzw. 50 Std. eine längere Halbwertszeit auf. Die Gesamtausscheidung in unserer Untersuchungen liegt unter den Werten, die von anderen Autoren ermittelt werden (Tab.16).

Die Elimination i.v. verabreichten g-Strophanthins erfolgt überwiegend über die Niere. Dafür spricht die

Tab.16 Renale Ausscheidungskinetik von g-Strophanthin nach intravenöser Gabe (* aus dem Abfall des Blutspiegels bestimmt).

Autor	Methode	Dosis	renale Ausscheidung		$t_{1/2}$ (Std.)
			Zeit(Std.)	% der Dosis	
Eickenbusch et al. (1970)	^3H	1 µCi/kg	48	52	-
Erdle et al.(1979)	^3H	0,25 mg	24	36	11*
			72	50	-*
Kramer und Scheler (1972)	^3H	0,09 mg (1,09 µCi/mg)	24	34	14*
			72	44	-*
Lahrtz et al. (1969)	^3H	0,66 µCi/kg (= 0,04 mg/70 kg)	48	61	50*
Marks et al.(1964)	^3H	27 µCi + 0,25 mg unmarkierte	24	45-63	5,5*
Selden et al.(1974)	^3H	5 µg markierte +	144	46	22*
	RIA	250 µg unmarkierte	144	48	-
Greeff et al.(1974)	RIA	0,5 mg	24	30	-
			∞	66	39
Verspohl (1973)	RIA	0,5 mg	24	29	-
			∞	66	55
eigene Ergebnisse	RIA	0,5 mg	24	18,8	-
			∞	32,0	22,8

Beobachtung, daß bei Patienten mit Niereninsuffizienz höhere Plasmaspiegel und längere Halbwertszeiten gefunden wurden als bei Nierengesunden (Kramer et al., 1970 b; Lahrtz und van Zwieten, 1968; Lahrtz et al., 1969; Selden und Haynie, 1975). Lahrtz und van Zwieten (1968) fanden außerdem, daß bei Patienten mit gestörter Gallenproduktion weder Plasmaspiegel noch die Harnausscheidung beeinflußt wurde. Neben der renalen Ausscheidung fanden Selden et al.(1974) nach i.v. Injektion von ^{3}H-g-Strophanthin etwa 33 % der Radioaktivität in den Fäzes, aber nur 2-8 % der verabreichten Dosis wurden mit der Galle ausgeschieden (Marks et al., 1964; Selden et al., 1974). Es ist zu vermuten, daß g-Strophanthin nicht allein mit der Galle, sondern auf bisher noch unbekannten Wegen in das Intestinum sezerniert wird (Selden et al., 1974).

Nach oraler Gabe ist die Halbwertszeit mit 49,7 Std. gegenüber der nach i.v. Gabe deutlich verlängert und entspricht etwa dem Wert von Greeff et al.(1974) mit 40 Std.. Die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich beträgt 0,5 % der verabreichten Dosis, wobei etwa 30 % innerhalb den ersten 24 Std. im Harn erscheinen. Diese Werte liegen in der gleichen Größenordnung, die Greeff et al.(1974) mit dem RIA, Lahrtz et al.(1968) und Marchetti et al.(1971) nach der Verabreichung von ^{3}H-g-Strophanthin zwischen 0,5-2 % der verabreichten Dosis fanden (Tab.17).

Die Auftrennung des Nativharns mittels HPLC zeigt, daß g-Strophanthin nach i.v. Injektion wenig metabolisiert wird. 80 % der nachweisbaren Verbindungen werden als unverändertes g-Strophanthin identifiziert. Dies könnte sich durch die chemische Konstitution von g-Strophanthin erklären, da die Rhamnose alphaglykosidisch an das

Tab.17 Renale Ausscheidungskinetik und enterale Resorption von g-Strophanthin nach oraler Gabe.

Autor	Methode	Dosis	renale Ausscheidung		$t_{1/2}$	RQ
			Zeit(Std.)	% der Dosis	(Std.)	(%)
Lahrtz et al. (1968)	^3H	1 µCi/Kg	24	0,5-2	-	-
Marchetti et al. (1971)	^3H	50-150 µg/Kg	24	1,0-1,5	-	7,0
Greeff et al. (1974)	RIA	6 mg	24	0,5	-	-
			∞	1,3	40	1,9
Erdle et al. (1979)	^3H	6 mg per-lingual	24	0,4-0,9	-	-
			72	0,6-2,5	-	-
Eigene Ergebnisse	RIA	8 mg	24	0,1	-	-
			∞	0,5	49,7	1,4

Aglykon gebunden ist und deshalb im Organismus kaum abgespalt wird. Die restlichen 20 % sind unbekannte polare Verbindungen, bei denen es sich möglicherweise um Konjugate von g-Strophanthin mit Glucuronsäure oder Schwefelsäure handelt; wegen der kleinen Menge ließen sie sich in unseren Versuchen nicht identifizieren. Frühere Untersuchungen weisen ebenfalls darauf hin, daß g-Strophanthin im Organismus nicht oder kaum metabolisiert wird: Eickenbusch et al.(1970), Lahrtz et al. (1968) und Marks et al.(1964) fanden bei der chromatographischen Untersuchung des Harns nach i.v. Injektion von ^{3}H-g-Strophanthin nur einen Peak, der sich wie authentisches g-Strophanthin verhielt.

5.4. Biologische Verfügbarkeit bzw. enterale Resorption von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin.

Biologische Verfügbarkeit und enterale Resorption sind in der Terminologie der klinischen Pharmakologie nicht identisch, da ein Teil der Arzneimittel nach ihrer Resorption in der Darmwand oder in der Leber metabolisiert bzw. abgebaut werden kann (first pass effect) und dann nicht verfügbar wäre. Anderseits errechnet sich der Resorptionsquotient aus der biologischen Verfügbarkeit, so daß hier auf eine Untersuchung von Verfügbarkeit und Resorption verzichtet wird.

Für Cymarin errechnet sich nach oraler Gabe eine biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 46,9 %. Dieser Wert ist höher als der Wirth et al. (1979) mit radioimmunologischen Methoden ermittelte Resorptionsquotient von 35 % und deutlich höher als die Werte, die sich aufgrund klinischer Erfahrungen von Geissberger (1961), Grobel und Mottahedin (1966), Handrick (1966), Schwarzbach und Hermstein (1967), Storz

(1969) und Krämer et al.(1972) ergaben und zwischen 15-33,5 % lagen.

Für k-Strophanthosid errechnet sich nach oraler Gabe eine biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 15,6 %. Aus der ähnlich hohen Halbwertszeit von k-Strophanthosid und Cymarin nach oraler Gabe und den Ergebnissen von metabolischer Analyse läßt sich darauf schließen, daß k-Strophanthosid hauptsächlich nach der Abspaltung der Glucosereste mit Bildung von Cymarin aus dem Darm resorbiert wird (S.5.2.). Das Auftreten von freiem und konjugiertem k-Strophanthosid im Harn zeigt, daß nur ein geringer Prozentsatz unverändert aus dem Darm resorbiert wird. Es besteht eine enge Beziehung zwischen biologischer Verfügbarkeit von Cymarin und k-Strophanthosid mit ihren physiko-chemischen Eigenschaften. Da k-Strophanthosid eine höhere Polarität durch Hydroxylgruppen an 2 Glucosemolekülen besitzt als Cymarin, wird es weniger enteral resorbiert.

k-Strophanthosid wird nach oraler Gabe in unseren Untersuchungen nur zu 15,6 % resorbiert. In der Literatur fanden sich hierzu keine Angaben. Bei rektaler Verabreichung von ^{3}H-k-Strophanthosid fanden Ghirardi et al. (1973) bei gesunden Versuchspersonen eine Resorption von 31 %.

g-Strophanthin wird nach oraler Gabe vermutlich wegen seiner hohen Polarität nur wenig aus dem Darm resorbiert. Die biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 1,4 % stimmt mit den von Greeff et al. (1974) beschriebenen Werten von 1,9 % überein, während Marchetti et al.(1971) einen Resorptionsquotient von 7 % fanden (Tab.17). Erdle et al.(1979) fanden auch nach perlingualer Gabe von ^{3}H-g-Strophanthin eine niedrige und unregelmäßige Resorption.

6. Zusammenfassung.

Die renale Ausscheidung bzw. Pharmakokinetik von Cymarin, k-Strophanthosid und g-Strophanthin wurde nach einmaliger intravenöser oder oraler Gabe an gesunden, männlichen Versuchspersonen untersucht. Die Kombination des Radioimmunoassays mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie ermöglichte neben einer quantitativen Bestimmung der renalen Ausscheidung auch eine quantitative Analyse ihrer Metaboliten. Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Cymarin wird nach i.v. Injektion (0,5 mg) mit einer Halbwertszeit von 13,4 Std. schneller renal eliminiert als nach oraler Gabe (3,0 mg) mit einer Halbwertszeit von 23,3 Std.. Die Gesamtausscheidung extrapoliert auf Unendlich beträgt nach i.v. Injektion 45,6 % und nach oraler Gabe 21,4 % der verabreichten Dosis. Daraus errechnet sich eine biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 46,9 %.

Der Metabolismus von Cymarin im Organismus verläuft nach i.v. und oraler Gabe gleichartig, wobei folgende Wege beschritten werden: eine hydrolytische Cymaroseabspaltung, eine Reduktion der Aldehydgruppe am C-19 unter Bildung von k-Strophanthidin, Cymarol und k-Strophanthidol und eine Konjugation von Cymarin und dessen Metaboliten an Glucuronsäure oder Schwefelsäure. 80 % der im Harn nachweisbaren Verbindungen sind Konjugate; dies könnte die schnelle renale Elimination des Cymarins erklären.

2. k-Strophanthosid wird nach i.v. Injektion mit einer Halbwertszeit von 98,9 Std. nur langsam renal eliminiert. Extrapoliert auf Unendlich finden sich 72,6 % der verabreichten Dosis (0,5 mg) im Harn. Nach oraler Gabe

verläuft die renale Ausscheidung mit einer Halbwertszeit von 22,1 Std. wesentlich schneller als nach i.v. Injektion; 11,3 % der verabreichten Dosis (4,77 mg) sind im Harn nachweisbar. Daraus errechnet sich eine biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 15,6 %.

Der Metabolismus von k-Strophanthosid nach i.v. und oraler Applikation unterscheidet sich deutlich. Nach i.v. Injektion wird k-Strophanthosid nur wenig metabolisiert und zu etwa 70 % unverändert renal ausgeschieden, während nach oraler Gabe rund 80 % der insgesamt nachweisbaren Verbindungen (k-Strophanthidin,Cymarin, k-Strophanthin-β bzw. k-Strophanthidol, Cymarol und k-Strophanthosid) als Konjugate mit Schwefelsäure bzw. Glucuronsäure im Harn erscheinen. Daraus läßt sich schließen, daß oral verabreichtes k-Strophanthosid zunächst unter Zuckerabspaltung in k-Strophanthin-β und Cymarin übergeht und als solches resorbiert bzw. weiter im Organismus metabolisiert wird.

3. g-Strophanthin wird nach i.v. Injektion mit einer Halbwertszeit von 22,8 Std. renal eliminiert. Extrapoliert auf Unendlich erscheinen 33,2 % der verabreichten Dosis (0,5 mg) im Harn. Nach oraler Gabe ist die Halbwertszeit mit 49,7 Std. deutlich länger als nach i.v. Applikation und nur 0,5 % der verabreichten Dosis (8,0 mg) sind im Harn nachweisbar. Daraus errechnet sich eine biologische Verfügbarkeit bzw. ein Resorptionsquotient von 1,4 %.

g-Strophanthin wird im Organismus nur wenig metabolisiert. Intravenös verabreichtes g-Strophanthin ist zu 80 % unverändert im Harn nachweisbar. Nach oraler Applikation ist die ausgeschiedene Menge für die Analyse zu gering.

7. Literaturverzeichnis.

1.Brass,H. und H. Philipps: Die Elimination von α-Acetyl-digoxin und k-Strophanthin bei Niereninsuffizienz.
Klin. Wochenschr. 48, 972-978 (1970)

2.Eickenbusch,W., H. Lahrtz, U. Seppelt and P.A. van Zwieten: Serum concentration and urinary excretion of ^{3}H-ouabain and ^{3}H-digitoxin in patients suffering from hyperthyroidism or hypothyroidism.
Klin. Wochenschr. 48, 270-275 (1970)

3.Engler,R., P. Holtz und H.W. Raudonat: Über die Spaltung herzwirksamer Glykoside im Tierkörper.
Arch. Exp. Path. Pharmakol. 23, 393-408 (1958)

4.Erdle,H.P., K.D. Schultz, E. Wetzel und F. Gross: Resorption und Ausscheidung von g-Strophanthin nach intravenöser und perlingualer Gabe.
Dtsch. Med. Wochenschr. 104, 976-979 (1979)

5.Erni,F. and R.W. Frei: A comparison of reversed phase and partition high-performance liquid chromatography of some digitalis glycosides.
J. Chromatogr. 130, 169-180 (1977)

6.Geissberger,W.: Cymarin, ein oral wirksames k-Strophanthin.
Schweiz. Med. Wochenschr. 91, 241-243 (1961)

7.Ghirardi,P., A. Marzo, M. Gainfranceschi, L. Bertoli, F. Conti and O. Mantero: Plasma levels and urinary excretion of k-strophanthoside (^{3}H) administered rectally to human subjects.
Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 23, 1547-1550 (1973)

8.Greeff,K.: Tierexperimentelle Untersuchungen über die Resorption von Strophanthin bei oraler Verabfolgung. Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 24, 310-317 (1958)

9.Greeff,K. and K.E. Wirth: Pharmacokinetics of Strophanthus Glycosides.
Cardiac Glycosides. In: Hand. Exp. Pharmacol., Vol.56/II Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1981)

10.Greeff,K., E. Köhler, H. Strobach und E. Verspohl: Zur Pharmakokinetik des g-Strophanthins.
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 40, 301-305 (1974)

11.Grobel,P. und M. Mottahedin: Klinischer Beitrag zur Frage der oralen Wirksamkeit strophanthinartiger Substanzen am Beispiel des Cymarins.
Therapiewoche 16, 1631-1637 (1966)

12.Gundert-Remy,U., E. Weber and W. Rabl: ^{3}H-Cymarol in man, Excretion pathways and serum protein binding.
Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 28, 1174-1176 (1978)

13.Handrick,H.G.: Erfahrungen mit Cymarin in der Praxis.
Med. Klinik 61, 1873-1876 (1966)

14.Karch,K., I. Sebestian, I. Halasz and H. Engelhardt: Optimization of reversed-phase separation.
J. Chromatogr. 122, 171-184 (1976)

15.Kramer,P., J. Horenkamp, B. Willms und F. Scheler: Das Kumulationsverhalten verschiedener Herzglykoside bei Anurie.
Dtsch. Med. Wochenschr. 95, 444-453 (1970 b)

16.Kramer,P. und F. Scheler: Renale Eliminationskinetik verschiedener Herzglykoside.
Dtsch. Med. Wochenschr. 97, 1485-1490 (1972)

17.Krämer,D.D., P. Ghabussi und H. Hochrein: Klinische Untersuchungen über die orale und parenterale Wirksamkeit von k-Strophanthin-α an dekompensierten Herzkranken.
Dtsch. Med. Wochenschr. 97, 870-875 (1972)

18.Kuschinsky,K.: Über die Bindungseigenschaften von Plasmaproteinen für Herzglykoside.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. exp. Path. 262, 388-398 (1969)

19.Lahrtz,H., H.M. Reinold and P.A. van Zwieten: Serum concentration and urinary excretion of ^{3}H-ouabain in patients suffering from liver or kidney diseases.
Pharmacologia Clinica 1, 114-118 (1969)

20.Lahrtz,H., R.W. Sattler und P.A. van Zwieten: Über den Blutspiegel und die Ausscheidung radioaktiv markierter Herzglykoside nach deren intraduodenaler Applikation bei der Katze.
Z. Exp. Medizin 148, 210-222 (1968)

21.Lahrtz,H. und P.A. van Zwieten: Der Einfluß von Leber- und Nierenkrankungen auf den Serumspiegel und die Urinausscheidung von ^{3}H-g-Strophanthin.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 260, 165-166 (1968)

22.Lauterbach,F.: Die Reduktion der Aldehydgruppe des Strophanthidins und seiner Glykoside im tierischen Stoffwechsel.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 247, 71-86 (1964)

23.Lauterbach,F. und K. Repke: Die fermentative Abspaltung von D-Digitoxose, D-Cymarose und L-Thevetose aus Herzglykosiden durch Leberschnitte.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmak. 239, 196-218 (1960)

24.Marchetti,G.V., A. Marzo, C. de Ponti, A. Scalvini, L. Merlo and V. Noseda: Blood levels and tissue distribution of ^{3}H-ouabain administered per os.
Arzneim. Forsch. (Drug Res.) 21, 1399-1403 (1971)

25.Marks,B.H., S. Dutta, J. Gauthier and D. Elliott: Distribution in plasma, uptake by the heart and excretion of ouabain-^{3}H in human subjects.
J. Pharmacol. exp. Ther. 145, 351-356 (1964)

26.Marzo,A., P. Ghirardi, O. Riva, G.C. Maggi, A. Scalvini, and G. Marchetti: Plasma turnover and excretion of k-strophanthoside-^{3}H in human volunteers after parenteral administration.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 294, 115-120 (1976)

27.Moerman,E.: Distribution, excretion and metabolism of cymarin in the rat.
Arch. Int. Pharmacodyn. 156, 489-493 (1965)

28.Nachtmann,F., H. Spitzy and R.W. Frei: Rapid and sensitive high-resolution procedure for digitalis glycoside analysis by derivatization liquid chromatography.
J. Chromatogr. 122, 293-303 (1976)

29.Rietbrock,N., H.F. Vöhringer und J. Kuhlmann: Der Metabolismus herzwirksamer Glykoside.
Herz/Kreisl. 9, Nr. 14, 825-832 (1977)

30.Schwarzbach,W. und N. Hermstein: Ergebnisse der klinischen Prüfung eines enteral resorbierbaren Strophanthins.
Med. Klin. 62, 15-19 (1967)

31.Selden,R. and G. Haynie: Ouabain plasma level kinetics and removal by dialysis in chronic renal failure.
Ann. Int. Med. 83, 15-19 (1975)

32.Selden,R., N. Margolies and T.W. Smith: Renal and gastrointestinal excretion of ouabain in dog and man.
J. Pharmacol. exp. Ther. 188, 615-623 (1974)

33.Selden,R. and T.W. Smith: Ouabain pharmacokinetics in dog and man.
Circulation 45, 1176-1182 (1972)

34.Storz,H.: Über die quantitative Wirksamkeit von k-Strophanthin-α (Cymarin) bei intravenöser und oraler Applikation.
Dtsch. Med. Wochenschr. 94, 1166-1169 (1969)

35.Verspohl,E.: Entwicklung radioimmunologischer Methoden zur Bestimmung von Glykosiden des Digitoxigenins, g-Strophanthidins und k-Strophanthidins mit Untersuchungen zur Pharmakokinetik des Digitoxins und g-Strophanthins.
Inauguraldissertation, Düsseldorf (1973)

36.Wirth,K.E., K. Greeff, D. Hafner und H. Strobach: Zur Pharmakokinetik von k-Strophanthin.
Verhandl. Dtsch. Ges. Inn. Med. 85, 1238-1241 (1979)

8. Danksagungen.

Herrn Professor Dr. K. Greeff danke ich für die Überlassung des Themas und die Betreuung der Arbeit.

Herrn Dipl.-Chem. H. Strobach danke ich für die methodische Unterweisung und die Hilfe bei der wissenschaftlichen Auswertung sowie der Abfassung der Arbeit.

Herrn Dipl.-Math. D. Hafner danke ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Untersuchungsergebnisse.

Die Durchführung der Untersuchungen wurde in dankenswerter Weise ermöglicht durch ein Stipendium des Deutschen Akademischen Austauschdienstes.

9. Lebenslauf.

Name:	Khaisaeng Rojsathaporn
Geburtstag:	27.4.1951
Geburtsort:	Singhburi, Thailand
Eltern:	Oberstleutnant Preecha Rojsathaporn und Frau Usa Rojsathaporn

Ausbildungsgang:

1957-1964	Besuch der Grundschule
1964-1967	Besuch der Oberschule
1967-1969	Besuch der Triam Udom Suksa Schule, Bangkok
4.1969	Abschlußprüfung mit dem Zertifikat vom Unterrichtsministerium, Bangkok (=Preparatory College Course Examination)
1969-1971	Studium an der Naturwissenschaftlichen Fakultät, Mahidol Universität, Bangkok
1971-1974	Studium an der Pharmazeutischen Fakultät, Mahidol Universität, Bangkok
27.3.1974	Abschlußprüfung mit dem akademischen Grad "Bachelor of Science in Pharmacy"
1974-1976	Studium an der Faculty of Graduate Studies, Mahidol Universität, Bangkok (als Stipendiatin der Welt-Gesundheits-organisation)
12.5.1976	Abschlußprüfung mit dem akademischen Grad "Master of Science (Pharmacology)"
ab 1.7.1976	Tätigkeit als wissenschaftliche Assistentin in der Pharmakologischen Abteilung, Medizinische Fakultät, Khon Kaen Universität, Khon Kaen
ab 4.1979	Beginn des Studiums in der Bundesrepublik Deutschland als Stipendiatin des deutschen akademischen Austauschdienstes
4.1979-9.1979	Besuch des Intensivkurses der deutschen Sprache im Goethe-Institut, Schwäbisch Hall
1.10.1979	Beginn des Studiums an der Universität Düsseldorf